

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK(TIP)
DOKTORA PROGRAMI

**DÜŞÜK YOĞUNLUKLU ULTRASESİN SİSPLATİN İLE
İNDÜKLENMİŞ PERİFERİK NÖROPATİDEKİ TEDAVİ
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

BÜŞRA BİLİR YILDIZ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-19015 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Büşra BİLİR YILDIZ tarafından hazırlanan “Düşük Yoğunluklu Ultrasesin Sisplatin ile İndüklenmiş Periferik Nöropatideki Tedavi Etkinliğinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/08/2021

Üye (T.D.)	: Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Gizem YALÇIN DÖNMEZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Murat PEHLİVAN	Ege Üniversitesi
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Serçin ÖZLEM ÇALIŞKAN	Uşak üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca büyük yardım ve desteğini gördüğüm, hoşgörüsünü esirgemeyen ve deneyimleri ile bana yol gösteren sevgili danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT'e çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN'e, tez çalışmalarım boyunca değerli fikirlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Gizem YALÇIN DÖNMEZ'e teşekkür ederim. Tez savunma jürimde bulunan ve değerli fikirlerini paylaşan hocalarım Prof. Dr. Mehmet BİLGİN, Prof. Dr. Murat PEHLİVAN ve Dr. Öğr. Üyesi Serçin ÖZLEM ÇALIŞKAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her türlü desteği sağlayan arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Mehran Aksel, Araş. Gör. Dr. Mahmut Alp Kılıç, Dr. Ergün Cem Köken, Araş. Gör. Burçin İrem Abas, Araş. Gör. Esra Gökmen Yılmaz ve tüm Biyofizik AD. çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamda yardımcı olan Aydın Adnan Menders Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederim. Çalışmamın içerisinde yer alan histolojik incelemeleri gerçekleştiren Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY'a ve bu incelemelerdeki hesaplamaları gerçekleştiren Biyofizik AD doktora öğrencisi Hatice Fulya YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Didem BAKAY İLHAN ve Merve SERİN'e teşekkür ederim.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde çalışan hocalarıma ve arkadaşlarıma, Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline teşekkür ederim.

TPF-19015 proje ile çalışmama destek olan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, özellikle verdikleri manevi destekle beni ayakta tutan sevgili aileme, kardeşime ve eşime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.2. Sinirde Elektriksel İleti	7
2.1.3. Kanser ve Periferik Nöropati	9
2.1.3.1. Kemoterapiye Bağlı Periferik Nöropati.....	11
2.1.3.1.1. Kemoterapiye Bağlı Periferik Nöropatinin Klinik Değerlendirilmesi	14
2.1.3.2. Nöropati Oluşum Nedenleri.....	15
2.1.3.2.1. Demiyelinizasyon	15
2.1.3.2.2. Mitokondriyel Disfonksiyon	16
2.1.3.4. Oksidatif Strese Bağlı Bozukluklar	17
2.1.3.5. Nöropatide İnflamasyon	18
2.2. Sisplatin	20
2.2.1. Sisplatinin Moleküler Yapısı ve Özellikleri	20
2.2.2. Sisplatinin Etki Mekanizması	22
2.2.3. Sisplatin Toksisitesi	23
2.2.4. Sisplatinin Klinikte Kullanımı ve Yan Etkileri	24
2.3. Ultrases	24
2.3.1. Ultrases Dalgalarının Biyofiziksel Etkileri	26
2.3.2. Ultrasesin Etki Mekanizması.....	27

2.3.3. Ultrasesin Sinir Rejenerasyonu Üzerine Olan Etkisi.....	30
2.3.4. Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereç.....	32
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	32
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Çalışma Grupları	32
3.2.1.1. Kimyasal Nöropati Modeli Oluşturulması	34
3.2.2. Tedavi Uygulaması.....	35
3.2.2.1. Melatonin Uygulaması	35
3.2.2.2. Düşük Frekanslı Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases Tedavisi	35
3.3. Nöroseptif Testler.....	36
3.3.1. Tail Flick Testi	36
3.3.2. Hot Plate Testi	37
3.4. Elektrofizyolojik Ölçümler.....	38
3.5. Western Blot Yöntemi	40
3.5.1. Doku Lizatının Hazırlanması ve Uygulanması	40
3.5.2. SDS-PAGE Elektroforez	41
3.5.3. Jelin Membrana Transfer Edilmesi.....	44
3.5.4. Membranın Antikor ile Muamele Edilmesi ve Görüntüleme	45
3.6. Biyokimyasal Analiz	45
3.6.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Ölçümü	45
3.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	46
3.7. Nöroinflamasyon İşaretçilerin Tayini.....	46
3.8. Histolojik İncelemeler	47
3.9. İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	49
4.1. Nöroseptif Test Sonuçlarının İncelenmesi	49
4.2. Elektrofizyolojik Ölçüm Sonuçları.....	53
4.3. Western Blot Analizi Sonuçları.....	59
4.4. Biyokimyasal Analizlerin İncelenmesi.....	61
4.5. Nöroinflamasyon İşaretçilerinin İncelenmesi.....	63
4.6. Histolojik Analiz Sonuçları	65

5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR.....	83
EKLER	113
Ek 1	113
BİLİMSEL ETİK BEYANI	114
ÖZ GEÇMİŞ.....	115

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AP	: Aksiyon potansiyeli
ATP	: Adenozin trifosfat
BKAP	:Toplam yanıt süresi
CAT	: Katalaz
CIPN	: Kimyasal indüklenmiş periferel nöropati
CP	: Sisplatin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	: Glutasyon
IENF	: İntraepidermal sinir lifi
IL	: İnterlökin
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
i.p.	: İntraperitoneal
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
mDNA	: Mitokondriyel DNA
MEL	: Melatonin
NCI	: Ulusal Kanser Entitüsü
P/D	: Proksimal/distal
SOD	: Süperoksit dismutaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
US	: Ultrases

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Periferik sinir duyu sistemi (Myers, 1998).	5
Şekil 2. Sinir hücresi yapısı (Kandel ve diğerleri, 2013).	6
Şekil 3. Sinir liflerinin yapısı (Siemionow ve Brzezicki, 2009).	7
Şekil 4. Sinir lifinden kayıtlanan AP ve evreleri (Guyton and Hall, 2017).	8
Şekil 5. Sisplatinin moleküler yapısı (Snchez-Gonzlez ve diğerleri, 2011).	21
Şekil 6. Sisplatinin DNA ile etkileşmesinde oluşan ana eklentiler.	22
Şekil 7. Periferik sinir rejenerasyonu için hücrel sinyaller yolları	29
Şekil 8. Deneysel prosedürlerin zamanlaması.....	34
Şekil 9. 1, 3 ve 5. haftadaki Tail-flick test sonuçları (n=10, **p<0.01, ***p<0.001).....	49
Şekil 10. 1, 3 ve 5. haftadaki Hot-plate test sonuçları (n=10, **p<0.01, ***p<0.001).....	50
Şekil 11. Tedavi başlangıcında nosiseptif test sonuçları.	51
Şekil 12. Tedavi ortasında nosiseptif test sonuçları (n=10, *p<0.05).....	51
Şekil 13. Tedavi sonunda nosiseptif test sonuçları.....	52
Şekil 14. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait sinir iletim hızları	54
Şekil 15. Tüm grupların sağ ve sol siyatik sinirlerine ait distal latansları ve P/D oranı.	54
Şekil 16. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait amplitüt değerleri.	55
Şekil 17. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait BKAP alan/area değerleri (n=10).	56
Şekil 18. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait BKAP durasyon değerleri.	56
Şekil 19. Uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Bcl-2/β-aktin	59

Şekil 20. Uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Kaspaz-3/ β -aktin	60
Şekil 21. Uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Parkin/ β -aktin	61
Şekil 22. Tüm grupların siyatik sinir doku örneklerine ait MDA düzeyleri	62
Şekil 23. Tüm grupların siyatik sinir doku örneklerine ait SOD aktivitesi düzeyleri.	63
Şekil 24. Deney gruplarının serum örneklerine ait IL-1 β konsantrasyonları.....	64
Şekil 25. Deney gruplarının serum örneklerine ait IL-6 konsantrasyonları (n=10).	64
Şekil 26. Gruplara ait hematoksilen eozin boyaması, X400 büyütme	65
Şekil 27. Deney gruplarına ait akson çapı, miyelin kılıf kalınlığı ve miyelin çapı	66

RESİMLER DİZİNİ

Resim1. Araştırma kapsamında kullanılan <i>Wistar albino</i> ratlar ve deneysel gruplar (n=10)..	33
Resim 2. Deneklere kimyasal nöropati modeli oluşturmak için sisplatin uygulanması	35
Resim 3. Deneklere ultrases tedavisi uygulanması.	36
Resim 4. Deneklere Tail-flick testi uygulanması.	37
Resim 5. Deneklere Hot-plate testi uygulanması.....	38
Resim 6. Sinir ileti hızı ölçümü yapılan denek	39
Resim 7. Sonikatörde doku lizatının parçalanması.	40
Resim 8. Elektroforez düzeneğinde cam levhaların yerleştirilmesi.....	43
Resim 9. Denatürasyon işlemi	43
Resim 10. SDS-PAGE jelinin elektroforezde yürütülmesi	44
Resim 11. Blotlama cihazı	44

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tıbbi uygulamalarda kullanılan ultrasonik yoğunluklar	25
Tablo 2. Ultrasonun neden olduğu doku sıcaklık değişiklikleri	27
Tablo 3. Alt ve üst jellerin hazırlanması için gerekli olan malzemeler ve oranları	42
Tablo 4. Kimyasal nöropati oluşumu sırasındaki nosiseptif test sonuçları.....	50
Tablo 5. Tedavi sonrası nosiseptif test sonuçları.	53
Tablo 6. Deneyisel gruplara ait elektrofizyolojik ölçüm sonuçları.....	58

ÖZET

DÜŞÜK YOĞUNLUKLU ULTRASESİN SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ PERİFERİK NÖROPATİDEKİ TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yıldız B. B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2021.

Amaç: Sisplatin kullanarak oluşturulan periferik nöropatide düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin (US) tedavi etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlar kontrol, sisplatin, melatonin, 1 MHz frekans 0.5 W/cm^2 ve 1.5 W/cm^2 US tedavi grubu olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Haftada bir kez 3 mg/kg dozunda sisplatinin 5 hafta intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonuyla kimyasal nöropati oluşturulmuştur. Melatonin tedavi grubuna 10 mg/kg melatonin i.p. enjeksiyonu, US tedavi gruplarına ise 1 MHz frekansında 0.5 W/cm^2 ve 1.5 W/cm^2 güç yoğunluğunda US 15 gün boyunca uygulanmıştır. Deneklere sisplatin uygulaması sırasında ve tedavi süresince haftada bir kez tail flick ve hot plate testleri uygulanmıştır. Deney sonunda siyatik sinir elektrofizyolojik ölçümleri, MDA, SOD ve inflamasyon işaretçileri seviyeleri, apoptotik yolak ve mitofaji aktivasyonu varlığı incelenmiş ve doku histolojisi analiz edilmiştir.

Bulgular: Sisplatin uygulamasının uzamış nosiseptif tepki sürelerine ve azalmış sinir ileti hızına neden olduğu, US tedavilerin ise bu sonuçlarda düzelme olduğunu göstermiştir. Sisplatin uygulamasıyla artan oksidatif stres ve inflamasyonun uygulanan tedavilerle azaldığı ve kontrol seviyesine yaklaştığı gözlenmiştir. Sisplatin uygulanmasıyla siyatik sinirde apoptozun arttığı ve mitofajinin azaldığı gözlenirken, US tedavisiyle mitofaji yoluyla apoptozun baskılandığı gözlenmiştir. Sisplatin uygulamasının siyatik sinirde dejenerasyona ve miyelin kaybına neden olduğu, US uygulamasının ise bu dejenerasyonu iyileştirdiği görülmüştür.

Sonuç: Düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin sisplatin ile indüklenen periferik nöropatideki sinir disfonksiyonu tedavisinde etkili olduğu ve US tedavisinin kimyasal nöropatiyi ortadan kaldırmaya yönelik alternatif bir tedavi yöntemi olabileceği gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Düşük yoğunluklu darbeli ultrases, melatonin, periferik nöropati, sisplatin, siyatik sinir fonksiyonu.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE THERAPEUTICAL EFFICIENCY OF LOW INTENSITY ULTRASOUND ON CISPLATIN INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY

Yıldız B. B. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Biophysics Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2021.

Objective: This study aims to investigate the treatment efficacy of low-intensity pulsed ultrasound (US) in cisplatin-induced peripheral neuropathy.

Material and Methods: Rats were injected with 3 mg/kg/week of cisplatin (i.p.) for 5 weeks for the induction of chemical neuropathy. Melatonin injection (10 mg/kg i.p.) and ultrasound treatment (1 MHz, 0.5-1.5 W/cm²) was applied for 15 consecutive days after the formation of chemical neuropathy. Nociceptive tests were applied at regular intervals during cisplatin administration and treatment periods. At the end of the treatment, electrophysiological measurements were performed and tissue and serum samples were used to investigate MDA and SOD levels, presence of inflammation, activation of apoptotic and mitophagic pathways, and histological alterations.

Results: Cisplatin administration was observed to cause prolonged nociceptive response times and decreased nerve conduction velocity, while US treatments have shown improvement in these results. Oxidative stress and inflammation levels were observed to be increased upon cisplatin administration and the applied treatments led to a decrease in oxidative stress and inflammation. Cisplatin administration resulted in the induction of apoptosis together with a decrease in mitophagia in the sciatic nerve, while apoptosis and mitophagia were regulated by US treatment. There was a loss of myelin content and degeneration in sciatic nerves of cisplatin administered group, whereas US treatments ameliorated the degeneration and myelin loss.

Conclusion: Result of this study indicated that low-intensity pulsed ultrasound may be a promising treatment alternative for cisplatin-induced peripheral neuropathy.

Keywords: cisplatin, low-intensity pulsed ultrasound, melatonin, peripheral neuropathy, sciatic nerve function.

1. GİRİŞ

Kanser, görülme sıklığı bakımından dünya genelinde giderek artan ciddi bir hastalıktır. Bireyleri sosyal, ekonomik ve psikolojik olarak olumsuz yönde etkilemektedir. Kanseri tedavi edebilmek için uygulanan yöntemler arasında; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi yer almaktadır. Tedavi amacıyla hastaya verilen yüksek doz kemoterapi, hastada bazı önemli yan etkiler meydana getirmektedir. Bu yan etkilerden biri olan kimyasal nöropati kanser hastalarının yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Ovayolu ve diğerleri, 2003).

Kemoterapi tedavisi sonucu meydana gelen kimyasal nöropati aksonal hasara neden olmaktadır. Kimyasal nöropati sonucunda hastalarda el ve ayak parmaklarında uyuşma, yanma, ağrı, karıncalanma gibi his kaybı meydana gelir. Soğuk ve sıcak duyusuna karşı fazla duyarlı olma, cisimleri almada, kavramada zorlanma meydana gelmektedir. Kemoterapi başlar başlamaz bu semptomlar görülebilir ve kemoterapi devam ettikçe semptomlar kötüleşebilir (Bradley ve diğerleri, 2004). Bu semptomlar ve oluşan nöropati bazı hastalarda birkaç gün veya birkaç hafta sürerken bazılarında aylarca, yıllarca sürebilmektedir. İlgili sinirlerde hasar temel olarak aksonal dejenerasyon, segmental demiyelinizasyon veya her ikisinin birleşimi şeklinde kendini gösterebilir. Bunun yanında periferik nöropati nedenleri arasında miyelin kılıfının etkilenmesi sonucu aşırı miyelin kaybı ve dolayısıyla akson kaybının meydana gelmesi sayılabilir (Dumitru ve diğerleri, 2002). Kimyasal periferik nöropati, sinir sisteminin toksik kimyasallara maruz kalması sonucu meydana gelen bir hastalıktır. Günümüzde kimyasal nöropatiye neden olan ajanlar ve olası tedavi yöntemleri incelenmektedir. Yapılan çalışmalarda kimyasal nöropatinin etkilenen bölümüne göre (ince ve kalın fibriller, otonom sinirler) etkileri araştırılmış olsa da nöropatinin neden olduğu komplikasyonlarda etkin bir tedavi yöntemi kesin olarak henüz belirlenememiştir (Jaggi ve diğerleri, 2012).

Kemoterapiye bağlı olarak oluşan nöropati kanser tedavisi sırasında oldukça sık görülen bir nörolojik komplikasyondur. Görülme sıklığı %40 civarlarındadır. Bu oran uygulanan ilacın cinsine, oranına, dozuna ve uygulama süresine bağlı olarak değişebilmektedir (Argyriou ve diğerleri, 2012).

Kemoterapide uygulanan ajanlar mitokondrilere zarar verebilir. Bunun sonucunda reaktif oksijen türleri artar ve dolayısıyla oksidatif stresin artmasına neden olur (Dasari ve diğerleri, 2014). Oksidatif stresin artması nörol fonksiyonları bozar ve periferik sinir sistemindeki

nöronların, schwann ve glia hücrelerinin apoptoz mekanizmasıyla ölümüne eden olur. Periferik nöropati gelişmesinde polyol yolağı, protein kinaz C ve ileri glikolizasyon ürünleri (İGÜ) yolağı rol oynamaktadır (Bayram ve diğerleri, 2016). Sistemik kemoterapi uygulanan hastalarda kan beyin bariyerinin koruyucu etkisi olmadığı için periferik nöropati görülme sıklığı artmaktadır. Kemoterapiye bağlı periferik nöropati genellikle aksonal hasar ile kendini gösterir. Aksonal hasar ilaçların uygulanmasından bir süre sonra kendini belli eder. Periferik sinir sisteminin etkilendiği kısma göre periferik nöropati belirtileri değişiklik gösterebilir. Kalın fibrillerin zarar görmesi kas güçsüzlüğüne, refleks kaybına, sinir ileti hızının yavaşlamasına, proprioepsiyon kaybına neden olur. İnce fibrillerin zarar görmesi ise ağrı duyusu ve ısı duyusunun kaybına, yanıcı bir ağrı oluşmasına, hiperestezi kaybına neden olur. Kardiyak ritim bozukluğu, gastroparezi ve ortostatik hipotansiyon gibi hastalıkların oluşması otonom sinirlerin etkilenmesi sonucu ortaya çıkar. (Jaggi ve diğerleri, 2012).

Periferik nöropatide olduğu gibi kemoterapi ile indüklenen nöropatinin de sinir hücrelerinde artan reaktif oksijen türleri ve oksidatif stresin etkisiyle mitokondri fonksiyonlarında azalmaya neden olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda otofajik yolların inhibe olmasının oksidan hasarına uğramış protein ve organellerin birikmesine ve nörodejenerasyona neden olduğu (Giordano ve diğerleri, 2013), bu nedenle otofaji ya da mitofajiyi düzenleyen yöntemlerin sinir hasarını azaltarak periferik nöropati tedavisinde önemli bir yeri olacağı önerilmiştir (Areti ve diğerleri, 2014).

Bu çalışmada, kimyasal nöropati tedavisinde potansiyel bir tedavi alternatif olarak düşük yoğunluklu düşük frekanslı darbeli ultrases tedavisi önerilmektedir. Ultrasesin hücre proliferasyonu ve diferasyonunu uyarmak suretiyle doku tamir işlemlerinde tedavi edici etkisi olduğu bilinmektedir (Tsaklis, 2010). Düşük şiddetli darbeli ultrases günümüzde klinikte psödoartrozu tedavisi, kemik kırıkları ve yumuşak doku iyileşmesinde rutin olarak kullanılan bir uygulama halini almıştır. Düşük şiddetli darbeli ultrases uygulaması ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle sinir rejenerasyonu üzerine olan etkilerine yoğunlaşmıştır. Fakat, ultrasesin kemoterapi nedenli oluşan kimyasal nöropatide tedavi amaçlı kullanımına dair çalışmalar mevcut değildir. Wang ve diğerleri (2019) çalışmalarında düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin mezankimal kök hücrelerinde otofajiyi düzenleyerek kondrojenezi artırdığını göstermişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada kurkumin varlığında düşük yoğunluklu darbeli ultrases tedavisinden sonra tümör hücrelerinde mitofajinin başladığını gözlemlemişlerdir (Wang ve diğerleri, 2012). Ratlarda oluşturulan nöropati sonucu uygulanan ultrases tedavisinden sonra oksidatif stres seviyesinin azaldığı ve inflamasyonun düştüğünü

gözlemlemişlerdir (Ling ve diğerleri, 2017). Sonuç olarak, düşük yoğunluklu darbeli ultrases uygulaması nöropati tedavisinde umut verici bir tedavi alternatifi olabilir.

Bu çalışmanın amacı, sisplatin ile indüklenen kimyasal nöropatik sıçanlarda düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin tedavi etkinliğini araştırmaktır. Bunun yanında düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin apoptoz ve mitofaji üzerine olan etkisi değerlendirilerek kimyasal aracılı nöropatide ne derece etkin bir tedaviye neden olacağı incelenmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati tedavisi konusunda bilim dünyasına yeni bir yaklaşım sağlayabilecek, hastalar üzerinde oluşan psikolojik sorunların önlenerek kemoterapi etkinliği üzerinde farklı bir bakış açısı oluşturabilecektir. Çalışmanın hedeflerinde biri de ultrases tedavisi ile kimyasal nöropatiye alternatif bir tedavi yöntemi sunmaktır. Bunun yanında çalışma sonucunda elde edilen bulguların kimyasal nöropati tedavisinde uygulanabilecek doz, güç yoğunluğu, uygulama süresi gibi tedavi modalitelerinin belirlenmesinde etkili bir alternatif olabileceği düşünülmekte ve ultrases tedavisinin sinir hücreleri üzerine olan moleküler mekanizmasıyla ilgili literatüre katkıda bulunacaktır.

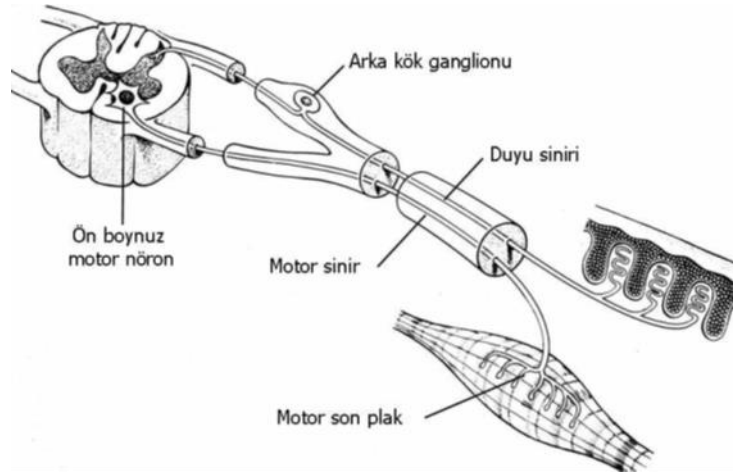
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Canlıların iç ve dış çevresini algılayabilmesini sağlayan bu sayede bilgi elde eden ve elde ettiği bilgiyi aktif olarak kullanabilen, vücut içerisinde bulunan hücresel ağları sayesinde gerekli olan sinyalleri ilgili organlara iletebilen ve bu organların aktivitelerini düzenleyen sisteme sinir sistemi denir. Sinir sistemi merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi olmak üzere ikiye ayrılır. Beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi sinir sisteminin en büyük kısmını oluşturur. Periferik sinir sistemi organizmanın en uzak noktasındaki yapılar ile merkezi organlar arasındaki bölgeleri birbirine bağlar. Beyin ve omurilik dışında kalan sinirler ve gangliyonlardan meydana gelir (Çalış, 2011; Boron ve Boulpaep, 2016; Taner, 2017).

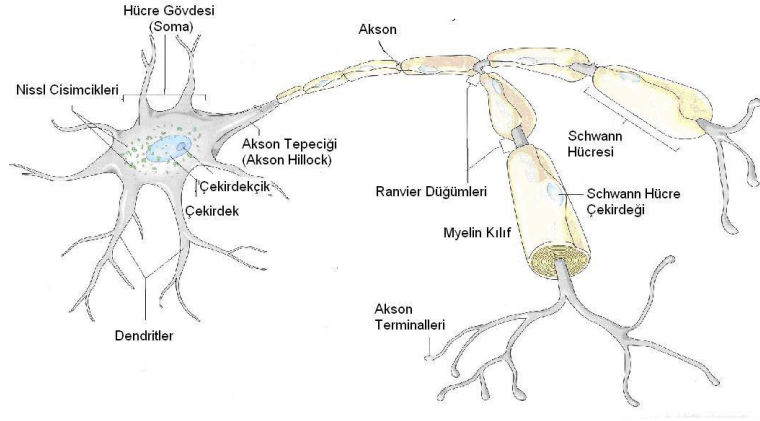
2.1.1. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi dışında kalan ve Schwann hücreleri veya ganglion hücreleri ile ilişkili olan motor, primer duyuşal ve otonom nöronların bölümlerinden oluşmaktadır. Bu sistem dorsal ve ventral spinal kökleri, spinal ve kranial sinirleri (birinci ve ikinci kranial sinirler hariç), diğer duyuşal gangliyonları, duyuşal ve motor terminallerini ile otonom sinir sisteminin büyük bir kısmını içermektedir (Schaumburg ve diğerleri, 1983; Jorter, 2011). Motor ve duyu sinirlerinin hücre gövdelerinin yerleşimi sırasıyla; medulla spinalis ön boynuzunda ve dorsal spinal arka kök gangliyonları içerisinde yer almaktadır (Myers, 1998). (Şekil 1). Eferent nöronlar (motor ve otonomik), dendritleri aracılığıyla nörotransmitter asetilkolin kullanarak diğer nöronlar ile merkezi sinir sisteminin nöronlarından sinyalleri alırlar. Aferent (duyuşal) nöronlar ise, dendritleri yoluyla sinyal iletimi için Pacinian cisimciği ve diğer özel hücre türlerinden sinyalleri alırlar (Menorca ve diğerleri, 2013).



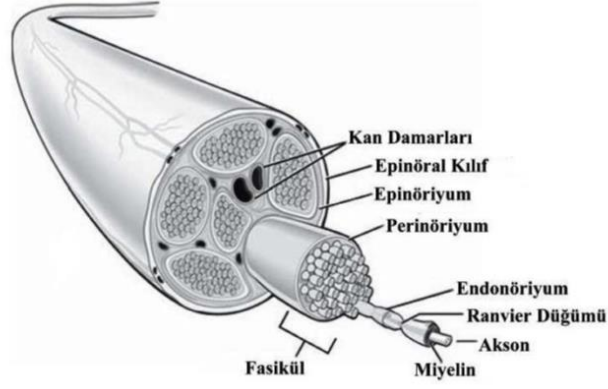
Şekil 1. Periferik sinir duyu sistemi (Myers, 1998).

Periferik sinir sistemi, destek bağ dokusu, nöronlar, hücresel yapılar ve hedef organlardan meydana gelen bir sistemdir. Sinir hücresi olan nöronlar birbirleriyle ilişki kurabilmek için dendrit adı verilen sitoplazmik uzantıları kullanırlar. Her bir nöronda periferik tek bir akson gönderir (Terzis ve Smith, 1990; Shier ve diğerleri, 2006). Nöronlar uyarıları alarak ilgili birimlere iletmek, hücresel aktiviteleri başlatmak ve nörotransmitterlerin salgılanmasından sorumludur. Her bir nöron; hücre gövdesi (soma), dendrit, akson ve presinaptik terminal olmak üzere dört kısımdan oluşur. Hücre gövdesi, sinir liflerinin beslenmesini ve korunmasını sağlayan hücrenin merkezi olan yapıdır. Nükleus, nükleolus ve Nissl cisimciklerinden oluşur. Protein sentezinden sorumlu olan Nissl cisimciği metabolik hızın arttığı durumlarda (örneğin sinir rejenerasyonu gibi) sayıca artış gösterir (Terzis ve Smith, 1990; Shier ve diğerleri, 2006; Kandel ve diğerleri, 2013). Dendritler, hücre gövdesinde yerleşik olarak bulunan, çevreden, duyu epitelinden veya nöronlardan gelen uyarıları alan ve ileten sitoplazmik uzantılardır (Berne ve Levy, 1999). Aksonlar, periferik ile sinir hücreleri arasındaki iletişimi sağlayan tek ve daha uzun olan uzantılardır (Snell, 1990). Aksonlar elektrik sinyallerini 0,5 m/s ile 120 m/s hızları aralığında iletebilme özelliğine sahiptir, miyelinli veya miyelinsiz olabilirler. (Kandel ve diğerleri, 2013) (Şekil 2).



Şekil 2. Sinir hücresi yapısı (Kandel ve diğerleri, 2013).

Periferik sinirler, endonörium, perinörium ve epinörium olmak üzere birbirinden bağımsız ve farklı özellikte bulunan destek doku içerir (Terzis ve Smith, 1990) (Şekil 3). Endonörium, fibroblast, kollajen, retikulin lifler, makrofaj, mast hücreleri gibi hücreler ve kapiller sistemden oluşan bağ dokudur, elastin içermez. Mukopolisakkaritten meydana gelen ana madde içerisinde bulunmaktadır. Miyelin kılıfı da bu yapı içerisinde yer almaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2003; Maggi ve diğerleri, 2003; Ross ve Pawlina, 2006). Perinörium, her bir sinir fasikülünün çevresini ayrı ayrı saran yassı perinöral hücreler aracılığıyla meydana gelen çok katmanlı bir bağ dokusudur. Koruyucu özelliği vardır ve kan-sinir bariyerini oluşturur. Perinörol hücreler ile endonöriumdaki endotel hücreler arasındaki bağlantı noktalarından meydana gelen kan-sinir bariyeri sinir lifinin iç dengesinin korunmasını sağlar (Fawcett ve Keynes, 1990; Maggi ve diğerleri, 2003). Fibröz bağ dokusundan oluşan epinörium, periferik sinir liflerinin etrafını sarmaktadır. Kollajen liflerle (tip 1 ve tip 3) desteklenmiş, lipid içeriği yüksek, gevşek, farklı oranlarda yağ dokusundan oluşmaktadır. Eklem bölgelerinde oldukça kalındır. Çünkü, ekstremitelerin hareketi sırasında fasikülleri oluşabilecek yaralanmalara karşı korumaktır (Tassler ve diğerleri, 1994; Stevens ve Lowe, 1997; Maggi ve diğerleri, 2003; Mumenthaler ve diğerleri, 2005).



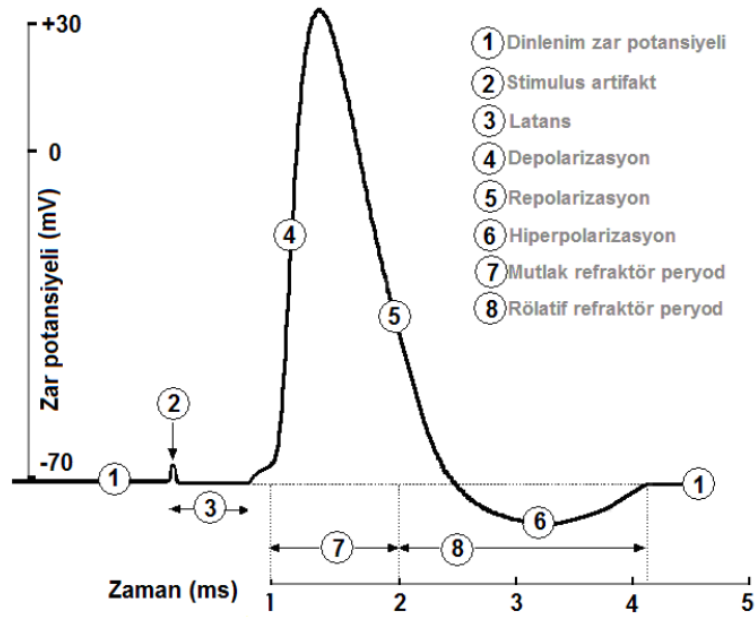
Şekil 3. Sinir liflerinin yapısı (Siemionow ve Brzezicki, 2009).

2.1.2. Sinirde Elektriksel İleti

Vücutta uyarılabilir hücreler olan kas hücreleri, nöronlar ve bazı bez hücreleri gibi dinlenme durumunda iken dışarıdan gelen herhangi bir sinyale karşı yanıt oluşturabilirler. Bütün hücreler dinlenme durumundayken hücre zarıyla ayrılmış bir potansiyel farka sahiptir. Bu potansiyel farka dinlenme membran potansiyeli (istirahat membran potansiyeli) denir. Hücre zarının içi hücre dışına göre daha negatif yüklüdür. Dinlenme membran potansiyeli uyarılabilir hücrelerde -70 mV ile -90 mV arasındadır. Sinir ve kas gibi uyarılabilen hücrelerde, hücrelerin uygun bir uyarı ile uyarılmasıyla dinlenme membran potansiyelinde ani olarak geçici bir değişiklik meydana gelir. Bu değişimin belirli bir eşik değeri aşması sonucunda meydana gelen potansiyel değişikliğe Aksiyon Potansiyeli (AP) denir. Periferik sinir aksonunda dinlenme membran potansiyeli -70 mV iken AP tepe değeri +30 mV seviyesindedir. Hücre zarının çift tabaka lipid yapısına sahip olmasından dolayı hücre içi ile hücre dışını elektriksel ve kimyasal olarak ayırarak pozitif ve negatif iyonların geçişini sağlamaktadır. Hücre içi ile hücre dışı arasındaki bu iyon geçişleri zar içerisinde görevli iyon kanalları aracılığıyla gerçekleşir (Guyton ve Hall, 2017; Junquiera ve Carneiro, 2003).

Sinir hücresi zarlarının çevresi pozitif ve negatif yüklü iyonlar (Na^+ , K^+ , Cl^-) ile çevrilidir. Membran dinlenme durumunda iken hücre içinde negatif yüklü iyonların hücre dışında ise pozitif yüklü iyonların sayısı çoktur. Hücre içi hücre dışına göre negatiftir, yani polarize durumdadır. Bu yük dağılımı zar dinlenme durumundayken iyon geçişine izin vermediği için korunmaktadır. İyonlar kendilerine özel kanallardan sızıntı şeklinde geçerek pompalar ile geri atılırlar. Böylece hücre içi ile dışı arasındaki konsantrasyon sabit kalmaktadır. Uygun bir uyarı

aracılığıyla dinlenme membran potansiyeli aksiyon potansiyelini tetiklemek için pozitif yönde bir değişime uğrar. Aksiyon potansiyeliyle beraber membran potansiyelinin değeri +40 mV ile +60 mV'a kadar ulaşır. Başka bir ifadeyle negatif değerde olan dinlenme membran potansiyeli pozitif değere doğru değişmektedir. Bu duruma depolarizasyon denir. Uyarı ile oluşan depolarizasyon durumunda Na^+ kanalları açılır ve hücre içine Na^+ iyonu geçişi başlar. Bu durumda hücre membran potansiyeli daha pozitif değerler almaya başlar ve eşik değere gelindiğinde voltaj-kapılı Na^+ kanalları açılır, hücre içerisine hızlı bir Na^+ akımı başlar. Na^+ iyonu membran potansiyelini kendi denge potansiyel değeri olan +60 mV değerine kadar pozitifleştirmeye çalışır. Ancak voltaj-kapılı Na^+ iyon kanalının aktivasyon kapıları kısa sürede inaktivasyon durumuna geçer ve voltaj bağımlı K^+ kanalları açılır. Uyarı tepe değerine ulaştıktan sonra tekrar negatif potansiyele geri dönmesi durumuna repolarizasyon denir. Bu durumda Na^+ kanalları inaktivedir ve hücre içine Na^+ girişi durur. Benzer şekilde K^+ kanalları da K^+ iyonlarını hücreden dışarıya atarak hücre zarını repolarize eder ve dinlenme seviyesine gelmesini sağlar.



Şekil 4. Sinir lifinden kayıtlanan AP ve evreleri (Guyton and Hall, 2017).

Membran potansiyelinin dinlenme membran potansiyelinden daha negatif potansiyel değere düşmesine hiperpolarizasyon denir. Hiperpolarizasyonun nedeni; K^+ voltaj kapılarının Na^+ kapıları gibi hemen inaktif duruma geçememesidir. Bu kapılar yaklaşık 10-15 ms kadar açık kalmaktadır. Aksiyon potansiyelinden sonra değişen hücre içi ve dışı iyon

konsantrasyonları Na^+/K^+ ATPaz pompası tarafından tekrar düzeltilir ve dinlenim koşullarına geri döndürülür. İlk AP'nin oluşumundan sonra hiçbir uyarıya yanıt verilemediği döneme refraktör dönem denir. Birçok Na^+ kanalı inaktif durumda olduğu için açılmazlar bu nedenle uygulanan voltaj hangi şiddette olursa olsun yeni bir AP oluşmaz. Refraktör dönemden hemen sonra eğer ilk uyarandan daha şiddetli bir ikinci uyaran AP oluşturabilir. Bu evreye de rölatif refraktör dönem denir (Şekil 4). Dinlenim durumundaki iyon dengesine geri dönebilmek için enerji harcanması ve aktif iyon pompalarının çalışması gereklidir. Bu işlemlerin tümü çok kısa bir sürede (saniyenin binde biri gibi) gerçekleşir (Catterall, 1988; Snell, 1990; Hille, 1992; Junquiera ve Carneiro, 2003; Mumenthaler ve diğerleri, 2005; Kim ve diğerleri, 2010; Pehlivan, 2015; Guyton ve Hall, 2017)

Bir uyarı eşik değerin aşılmasına neden oluyorsa her zaman aksiyon potansiyelinin oluşmasına neden olur. Eğer eşik değeri aşamayacak kadar zayıf bir uyaran veriliyorsa bu durumda aksiyon potansiyeli oluşmaz. Bu olaya 'ya hep ya hiç yasası' denir. Aksiyon potansiyelinin iletim hızı bazı özelliklere göre değişiklik gösterir. Mebrandaki Na^+ kanallarının yoğunluğunun fazla olması açılan kanal sayısı miktarını artırır ve böylece AP iletim hızı artar. Miyelin kılıfının kalınlığının fazla olması AP iletim hızını artırır. Sıcaklığın artması ve akson çapının büyük olması iletim hızını arttıran etmenlerdir (Kandel, 2000; Pehlivan, 2015; Guyton and Hall, 2017).

2.1.3. Kanser ve Periferik Nöropati

Kanser, kontrolsüz hücre çoğalması ve hücre ölümüne neden olan genlerde ortaya çıkan değişiklik sonucu hücrelerin anormal bir şekilde büyümesidir. Kansere yakalanma sıklığı dünya genelinde her geçen gün artmaktadır. Dünya kanser istatistiklerine göre kanser sonucu meydana gelen ölümler iskemik kalp hastalığından sonra ilk sırada yer almaktadır (The Top Ten Causes of Death 2017. World Health Organization). Kanserinin nedenleri arasında sigara, alkol kullanımı, hava kirliliği, sağlıksız beslenme, kanserojen maddelere ve radyasyona maruz kalma, kalıtsal özellikler gibi nedenler sıralanabilir. Günümüzde kanser tedavisi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında radyoterapi, cerrahi ve kemoterapi yer almaktadır. Bu teknikler dışında hormon tedavileri, hedefe yönelik tedaviler ve biyolojik tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır (Boyle ve diğerleri, 2008; Howlader ve diğerleri, 2010). Kanser tedavisiyle ilgili olarak çeşitli yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. Meydana gelen yan etkilerin

bir kısmı hastaların günlük fonksiyonlarında, yaşam kalitesinde ve tedaviye uyum göstermede bazı zorluklar göstermektedir. Tedavi sırasında karşılaşılan zorluklar karşısında hastaların bir kısmı tedaviyi yarıda bırakmaktadır ve dolayısıyla tedavinin etkinliği ortadan kalkmaktadır (Ovayolu diğerleri, 2003).

Nöropati merkezi ve periferik sinir sisteminde görülebilen sinir hasarı olarak tanımlanabilir. Periferik nöropati tipik olarak bilateral ayak duyu kaybı, parestezi, iğnelenme, yanma ve karıncalanma gibi etkilerle kendini gösterir (Singleton, 2007; Zhang, 2017). Periferik nöropatiler, akson veya miyelini oluşturan hücrelerin (Schwann hücreleri) metabolik, toksik, bulaşıcı veya genetik sebeplerden dolayı görevlerini yerine getirememeleri sonucu meydana gelen periferik sinir hastalıklarıdır. Periferik nöropatiler dünya genelinde birçok insanı etkilemektedir ve en yaygın görülen nörolojik hastalıklardan biridir. Bu hastalıktan sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 20 milyon insan etkilenmektedir (Gregg, 2004; Höke, 2012). Hastalar genellikle etkilenen sinir lifinin tipine bağlı olarak semptomlar yaşarlar. Motor sinir lifi tutulumu kasta güçsüzlüğe neden olur. Otonom sinir liflerinin tutulması, ortotastik hipotansiyon, kardiyak disritmi, terleme anormallikleri, inkontinans, erektil disfonksiyon veya kalıcı mide bulantısı, kusma, kabızlık veya ishal gibi gastrointestinal semptomlar olarak ortaya çıkabilen otonomik disfonksiyona yol açar. Diğer duyu liflerinin tutulumu zayıf dengeye, uyuşukluğa, bazen ağrılı parestezilere neden olur (Mendell, 2001; Höke, 2012).

Periferik nöropati kendisini değişen yoğunluktaki duysal, motor ve/veya otonomik fonksiyonlarda eksiklik olarak gösterir (Park ve diğerleri, 2013; Kızılay ve diğerleri, 2018). Genellikle ilk önce duysal semptomlar gelişir, ayakları ve elleri etkiler ve çoğunlukla en büyük eksiklikleri gösteren uzuvların en distal kısımları ile tipik bir “eldiven ve çorap” nöropatisi olarak ortaya çıkar (Rowinsky ve diğerleri, 1993; Bernhardson ve diğerleri, 2007). Semptomlar uyuşma, karıncalanma, iğne batması, dokunma hissinin değişmesi, sıcak veya soğuk algısının neden olduğu disesteziyi içerir (Iniguez ve diğerleri, 1998; Bernhardson ve diğerleri, 2007; Fehrenbacher, 2015). Ayrıca kendiliğinden yanma, ateş etme veya elektrik çarpması benzeri ağrıların yanı sıra mekanik, termal alodini veya hiperaljezi gibi acı veren duygular sıklıkla hissedilmektedir (Bernhardson ve diğerleri, 2007). Uyuşma, titreşim duyusu kaybı ve derin tendon ayak bileği refleksleri kemoterapi tedavisi alan hastalarda nöropatinin ilk belirtilerinden bazılarıdır, bunu parestezi ve pozisyonel duyu kaybı izler (Postma ve diğerleri, 1995; Forsyth ve diğerleri, 1997; Park ve diğerleri, 2011).

Periferik nöropati metabolizma hastalıkları, kalıtsal hastalıklar, yetersiz beslenme gibi farklı nedenlerle oluşabilmekle birlikte, kimyasal madde maruziyeti nedeniyle de

oluşabilmektedir. Bu nedenle, kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapötiklerinin yaygın yan etkisi şeklinde ortaya çıkmaktadır.

2.1.3.1. Kemoterapiye Bağlı Periferik Nöropati

Kemoterapötik ajanlar sinir sistemi yapılarına zarar vermektedir ve bireysel özelliğe bağlı olarak çeşitli nöropatilere neden olmaktadır. Kemoterapini sinir sistemi üzerindeki etkileri kullanılan ilacın fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve tek veya kümülatif dozlarına bağlı olarak farklı ilaç türleri arasında değişmektedir (Banach ve diğerleri, 2016). Kanser hastalarındaki periferik nöropatiler genellikle kemoterapiye bağlı periferik nöropati (CIPN) adı verilen nörotoksik kemoterapötik ajanlara bağlıdır. Daha az sıklıkla paraneoplastik bağışıklık aracılı veya neoplastik nöropatiler şeklinde de ortaya çıkmaktadır (Pike ve diğerleri, 2012; Hershman ve diğerleri, 2014). CIPN oranı, kemoterapi alan hastaların %80-90'ı kadar yüksek olabilir. Ancak, hasta üzerinde rahatsız edici ilaç etkisi kesildikten sonra toksik nöropatinin etkisinin azalır ve hastaların büyük bir kısmı iyileşir. Bununla birlikte CIPN'li hastaların yarısında nöropatik ağrı, ataksi ve distal güçsüzlük gibi uzun süreli semptomlar görülür (Windebank ve Grisold, 2008; Argyriou ve diğerleri, 2011). Toksisite, yüksek tek bir dozla veya kümülatif maruziyetten sonra ortaya çıkabilir. Gözlenen semptomlar şiddet ve süre bakımından farklılık gösterir. Akut, geçici termal duyumlardan kronik ağrı ve geri dönüşümsüz sinir hasarının eşlik ettiği periferik sinirlerde kalıcı değişikliklere kadar değişir (Seretny ve diğerleri, 2014). Yapılan son çalışmalar kemoterapiden sonraki ilk ayda ölçüldüğünde CIPN yaygınlığını yaklaşık %68.1, üç ayda %60 ve altı ay ve sonrasında % 30 olarak belirlemiştir (Seretny ve diğerleri, 2014; Czkowska ve diğerleri, 2019).

CIPN, motor ve otonomik değişikliklerin eşlik edebileceği ağırlıklı olarak duyuşsal bir nöropati çeşididir (Seretny ve diğerleri, 2014). İnfüzyon sırasında veya hemen sonrasında akut nöropatiye neden olan paklitaksel ve oksaliptatin dışında, CIPN semptomları genellikle kemoterapinin tamamlanmasından haftalar veya aylar sonra ilacın kümülatif dozu ile orantılı olarak ortaya çıkar (Maestri ve diğerleri, 2005; Argyriou ve diğerleri, 2013; Czkowska ve diğerleri, 2019). Bazı hastalar tedavi kesildikten sonra semptomların kötüleşmesi/şiddetlenmesi ayrıca hafif nöropatinin kötüleştiği veya yeni CIPN'nin gelişmesi gibi durumlar yaşarlar. Bu durum onkologlar için oldukça zorlayıcı bir durumdur. Çünkü, kemoterapi uygulaması sırasında hiçbir belirti CIPN semptomlarını hafifletmek için uygulanan ilaç dozunda bir

azaltmayı gerektirmez (Cavaletti ve diğ erleri, 2011). Kemoterapi tedavisi bittikten sonra ağırı ve duyuusal anormallikler aylarca hatta yıllarca s urebilir. Bu nedenle hastalar kanseri yenebilir fakat kanser tedavisinin neden olduğu n ropatiyle uzun bir s ure yaşamak zorunda kalabilirler (Flatters ve diğ erleri, 2017).

Kemoterapinin neden olduğu nöropatinin değişen derecelerde aksonopati ile indüklendiği düşünülmektedir (Cavaletti ve diğ erleri, 1992; Theiss ve Meller, 2000). Elleri ve ayakları tutan aksonlar gibi uzun lifli duyu nöronlarının özellikle nörotoksik harekete duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Yüksek dozlarda kemoterapötiklerin otonomik ve motor sinir sistemleri üzerindeki etkileri gözlemlenebilir; ancak bunlar sıklıkla gözlenmez ve hastalar tarafından en sık bildirilen CIPN semptomlarına aracılık ettiği düşünülmez (Wiernik ve diğ erleri, 1987; Lipton ve diğ erleri, 1989; Forsyth ve diğ erleri, 1997; Dougherty ve diğ erleri, 2004).

CIPN, birçok klinisyen tarafından bir hastanın gelecekteki yaşamı üzerindeki olumlu etkisi nedeniyle kabul edilebilir olarak görülen, hayat kurtarıcı veya en azından yaşam s uresini uzatan tedavinin bir yan etkisi olarak algılanmaktadır. Bununla birlikte pek çok hasta bu durumu öncelikle acı çekmeye neden olan ve dolayısıyla aradan geçen yıllardaki yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltan çok da hoş olmayan şikayetler açısından değerlendirmektedir (Jones ve diğ erleri, 2015). Kemoterapiye bağlı biyokimyasal ve hücresel değişikliklerin potansiyel kronikliği göz önünde bulundurulduğunda, kemoterapiyi uygulayan onkologlar sorunun büyüklüğünün ve ciddiyetinin farkında olmalı ve CIPN riskini arttıran faktörleri bilmelidir. Kanserden kurtulanların ömür boyu tıbbi izleme ve ilaca bağlı sağlık sorunları ve komorbiditelerin tedavisini gerektirmektedir (Zhang ve diğ erleri, 2017). Özellikle platin bazlı kanser ajanları ve taksanlar söz konusu olduğunda bu durum çok önemlidir; bu ilaçlarla CIPN, kemoterapinin tamamlanmasından birkaç yıl sonra s urebilir (Kerckhove ve diğ erleri, 2017).

CIPN risk faktörü olarak çeşitli örnekler verilebilir. Örneğin, hastanın yaşının büyük olması, sigara içmesi nöropati gelişimini arttırır. Azalmış kreatinin klerensi ile böbrek fonksiyon bozukluğu, diğer nörotoksik kemoterapötik ajanlara maruz kalma, paraneoplastik antikorlar ve bağımsız doğrudan kansere bağlı nöropati, kemoterapötik ajanların kümülatif dozu da risk faktörünü arttıran sebeplerdendir (Thompson ve diğ erleri, 1984; Postma ve diğ erleri, 1995; Seretny ve diğ erleri, 2014; Flatters ve diğ erleri, 2017; Cioroiu ve Weimer; 2017).

Periferik sinir sistemi üzerinde nörotoksik etkiler yapan kemoterapötikler en sık görülen kanser türlerine karşı kullanılan ilaçlardır. CIPN en çok platin bileşikleri (sisplatin, karboplatin

ve oksaliplatin), taksanlar (dosetaksel ve paklitaksel), vinka alkaloidleri (özellikle vinkristin ve vinblastin), epotilonlar (ixabepilone), proteazom inhibitörleri (bortezomib) ve immünomodülatör ilaçlar (talidomid) gibi kemoterapötik rejimde kullanılan ilaçlardır (Roytta ve Raine, 1986; Apfel ve diğerleri, 1993; Starobova ve Vetter, 2017). Bu ilaçlar arasından en nörotoksik olanları platin bazlı ilaçlar, taksanlar, ixabepilone, talidomid ve analoglarıdır. Daha az nörotoksik olanlar ise bortezomib ve vinka alkaloidlerdir. Ancak bu ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Czkowska ve diğerleri, 2019). Kemoterapötiklerin sinir sistemi yapılarına zarar verdiği ve CIPN'ye neden olduğu pek çok patomekanizma vardır. Bunlar, oksidatif stres ve mitokondriyal hasar, mikrotübül bozulması, miyelin kılıfı hasarı, DNA hasarı, değişmiş iyon kanalı aktivitesi, immünolojik süreçler ve nöroinflamasyonu içerir (Areti ve diğerleri, 2014).

Platin bazlı kemoterapötik ajanlar (oksaliplatin, sisplatin ve karboplatin), çeşitli katı tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Oksaliplatin sindirim sistemi tümörlerinin (ileri kolorektal, özofagus, mide, karaciğer ve pankreas kanseri) tedavisi için, sisplatin ve karboplatin diğer tümörlerin (küçük hücreli akciğer kanseri, testi, yumurtalık, beyin, meme, rahim, mesane) tedavisinde kullanılmaktadır. Platin bazlı kemoterapiyi takiben akut ve kronik nörotoksisite, uzun süreli infüzyon sürelerine, doz azaltmalarına, tedavi gecikmelerine ve hatta tedavinin kesilmesine neden olan önemli bir sınırlamadır (Storey ve diğerleri, 2010). Periferik nöropatiye ek olarak sisplatin ayrıca miyelotoksisite, ototoksisite ve nefrotoksisiteye neden olmaktadır. Sisplatin kaynaklı periferik nöropati zamana ve doza bağlı olarak ortaya çıkar. Nöropatinin başlangıcı değişken olabilmektedir, bazı hastalar ilk dozdan sonra semptomların başladığını söylerken, bazıları 12 terapi döngüsünden sonra başladığını bildirirler (Vanderhoop ve diğerleri, 1990). Sisplatin kaynaklı periferik nöropati 350 mg/m^2 'nin üzerindeki kümülatif dozlardan sonra gelişir ve $500\text{-}600 \text{ mg/m}^2$ 'lik kümülatif dozda hastaların %92'sinde görülür (Krämer-Hansen ve diğerleri, 2007). Epidemiyolojik veriler sisplatin için nöropatik semptomların insidansının %49 ile %100 arasında değiştiğini gösterirken, tedaviden 12 ay sonra hastaların %5-20'sinde kronik olarak hastalığı gösterdiği gözlenmiştir (Mollman ve diğerleri, 1988; Park ve diğerleri, 2013). Sisplatin kaynaklı periferik nöropatinin şiddeti ve kroniklik olasılığı daha yüksek kümülatif dozlar ve sisplatine daha uzun süre maruz kalınmasıyla artmaktadır (Gregg ve diğerleri, 1992).

2.1.3.1.1. Kemoterapiye Bağlı Periferik Nöropatinin Klinik Değerlendirilmesi

Hastalarda nöropatinin şiddetinin belirlemek için kullanılacak yöntemler ve nöropatinin yoğunluğunun ölçülmesi genellikle zordur. Dünya Sağlık Örgütü ve Ulusal Kansere Enstitüsü (NCI) tarafından hastaların yaşadığı semptomların yoğunluğunu sınıflandırmak için çeşitli derecelendirme ölçekleri geliştirilmiştir. 1. derece nöropati; derin tendon reflekslerinin kaybıyla hafif veya asemptomatik nöropatiyi veya günlük yaşamı etkilemeyen parestezi varlığını gösterir. 2. derece nöropati; günlük yaşamdaki karmaşık aktivitelerinde bazı kısıtlamalar, 3. derece; günlük aktiviteleri sınırlayan ciddi nöropati semptomlarını tanımlar ve 4. derece yaşamı tehdit eden nöropatiyi gösterir (Postma ve Heimans, 2000; Carlson ve Ocean, 2011).

Kemoterapi bazen duyu sinir liflerinin aksiyon potansiyeli genliğinde ve/veya sinir iletim hızında azalmaya neden olur (New ve diğerleri, 1996; Velasco ve diğerleri, 2014). Duyu nörofizyolojik çalışmalarının önemli bir sınırlaması, duyu sinirlerinin aksiyon potansiyel genliği ve iletim hızının çoğunlukla büyük çaplı duyu nöronlarının işlevini yansıtmasıdır. CIPN hastalarında yanma ağrı hissine büyük ölçüde katkıda bulunabilecek küçük ve orta çaplı sinir liflerinin disfonksiyonu kaydedilen uyarılmış potansiyeller tarafından tespit edilemez (Devigili ve diğerleri, 2008). Kemoterapi alan ve titreşim duyularında uyuşma ve kayıp gösteren hastalarda tutarlı bir patolojik bulgu, el ve ayaklarda intraepidermal sinir lifi (IENF) kaybıdır. IENF, küçük çaplı duyu nöronlarından miyelinsiz aksonlardan oluşur (Lauria ve diğerleri, 2006). Bu nedenle, intraepidermal innervasyondaki değişimin derecesini gözlemlemek, CIPN hastalarındaki küçük lif nöropatisini spesifik olarak değerlendirmek için immünohistokimya ve yeni fonksiyonel teknikler kullanılarak ölçülmüştür. Bu yeni teknikler arasında, sinir uyarılabilirlik eşiği takibi ve akson refleks parlama alanlarını belirlemek için Doppler flowmetresi bulunmaktadır (Park ve diğerleri, 2012; Namer ve diğerleri, 2013). Bu uç noktaların değerlendirilmesi, ilaçların fonksiyonel nöropatinin gelişmesini önleme yeteneğini test etmek için tercih edilir, çünkü değerlendirmeyi birincil hasar bölgesine, periferik sinir sistemine odaklarlar. Bu tekniklerin bir sınırlaması, innervasyonun yapısal kaybının her zaman hastalarda ağırlı nöropati semptomlarının varlığı ile ilişkili olmamasıdır (Kalliomaki ve diğerleri, 2011). Kemoterapötikler IENF kaybının tek nedeni değildir. Diyabetes mellitus (Lauria ve diğerleri, 1998), HIV enfeksiyonu (Polydefkis ve diğerleri, 2002) ve diğer sinir hasarları ile de görülür. Paradoksal olarak hem kalıcı ağırlı hemde ağrıya genetik duyarsızlık olan hastalarda tam bir IENF kaybı gözlenir. Bu durum da epidermal innervasyonun ağrı

değerleriyle mutlaka ilişkili olmadığını gösterir (Nolano ve diğerleri, 2000; Lauria ve diğerleri, 2006).

2.1.3.2. Nöropati Oluşum Nedenleri

2.1.3.2.1. Demiyelinizasyon

Kemoterapinin toksik etkileri başlıca akson, miyelin kılıfı, nöronal hücre gövdesi ve destekleyici glial yapılar dahil olmak üzere periferik sinir sisteminin yapısını ve işlevini etkiler. Pek çok toksik nöropati aksonları etkiler ve aksonopatiye neden olur. Ölmekte olan bir patern sergileyen distal, simetrik, duyu baskın nöropatiye neden olur. Distal dallar, aksonal taşıma akışının bozulmasına karşı en savunmasızdır ve ilk etkilenen kısımdır. En şiddetli formunda yaralanmanın distalindeki çevre sinir kılıfının wallerian (veya ikincil) dejenerasyonuna yol açar. Nöronal hücre gövdesi hasarı nöropatlilere neden olur ve sinir hücresi yetmezliği olarak kendini gösterir (Stillman ve Cata, 2006).

Schwann hücresinin miyelin kılıfı zarar gördüğünde aksonu yedekleyen ve düzensiz impuls iletimi ile sonuçlanan demiyelinizasyon meydana gelir. Hafif veya kendi kendine sınırlı bir formda, sadece segmental hasara yol açabilir. Hasarın şiddeti arttığında ikincil aksonal dejenerasyon meydana gelebilir ve süreç bağışıklık aracılı akut inflamatuvar demiyelinizan polinöropatinin ciddi bir formu olarak meydana gelir (Stillman ve Cata, 2006).

Miyelin, aksonları izole eden ve böylece sinir uyarılarının iletim hızını artıran lipid ve protein açısından zengin bir zardır. Olgunlaşma sırasında miyelin, periyodik bir altyapı oluşturan membranların yakın yerleşimi ile sıkışır. (Gilardini ve diğerleri, 2012). Genetik kusurlar (Auer Grumbach, 2004; Carter ve diğerleri, 2008), metabolik bozukluklar (Tracy ve Dyck, 2008), enfeksiyonlar (cüzam, HIV), inflamasyon (GBS-CIDP) veya toksik ajanlara bağlı miyelin kılıfı yapısındaki değişiklikler (Windebank ve Grisold, 2008) periferik sinir hasarına neden olabilir.

2.1.3.2.2. Mitokondriyel Disfonksiyon

Mitokondri, kanser patogenezinde ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda yer alan işlev bozuklukları ile hücrelerde enerji üreten yapılardır (Florea ve Büsselberg, 2011). Mitokondriyal yapıdaki anormallikler ve periferik duysal sinir liflerindeki fonksiyonel anahtar CIPN mekanizmaları olarak varsayılır ve doğrudan ağrı davranışı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. (Flattersand ve Bennett, 2006; Zheng ve diğerleri, 2012).

Kemoterapötiklerin pek çoğunun nöronal işlevi değiştirdiği düşünülen mekanizma, nöronal mitokondriyel fonksiyonun bozulmasıdır. Mitokondriyel lokalizasyon, değişmiş fisyon ve füzyon hızlarındaki ve mitokondriyal membran geçirgenliğindeki değişikliğe neden olur. Mitokondrideki bu değişiklikler kalsiyum kullanımı, sitokrom c'nin salınımı, mitokondriyal DNA hasarı gibi durumlar reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ile ilişkilidir. Mitokondrinin lokalizasyonunun mikrotübüller ve aktin filamanlar dahil olmak üzere sitoskeletal bileşenler yoluyla aksonal taşımaya bağlı olduğu (Morris ve Hollenbeck, 1995) ve sisplatinin nöronlarda veya nöronal hücre hatlarında organellerin aksonal hareketini bozduğu gösterilmiştir (Russell ve diğerleri, 1995). Çok sayıda farklı kemoterapötik ajanın duysal nöronal aksonlar (Jin ve diğerleri 2008; Zheng ve diğerleri, 2012), duysal nöronal soma (Podratz ve diğerleri, 2011) ve Schwann hücreleri içinde mitokondriyal şişmeyi indüklediği gösterilmiştir. Mitokondriyal şişme normal nöronlarda görülür, ancak artmış bir şişme insidansı mitokondriyal fonksiyondaki değişikliklerle ilişkilidir ve mitokondriyal geçirgenlik geçişinin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Nowikovsky ve diğerleri, 2009; Zheng ve diğerleri, 2011). Çoklu kemoterapötiklerin mitokondriyal geçirgenlik geçişini teşvik ettiği ve mitokondriyi depolarize ettiği (Evtodienko ve diğerleri, 1996; Kidd ve diğerleri, 2002), teorik olarak mitokondrilerin nöron için ATP soluma ve üretme yeteneğinde bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2011; Xiao ve diğerleri, 2011; Zheng ve diğerleri, 2012). Mitokondrinin depolarizasyonu kemoterapötiklerin nöronal duyarlılığı değiştirdiği başka bir mekanizma olan ROS üretimini artırır. Kemoterapötiklerin mitokondriyal lokalizasyonu ve enerji üretimini değiştirebileceği diğer bir mekanizma, mitokondriyel fisyon ve füzyon arasındaki dengenin bozulmasıdır. Mitokondrilerin birleştirilmesi olan fisyon, enerji üretiminde bir azalmaya yol açar ve ROS üretimini artırır. (Batandier ve diğerleri, 2004; Knott ve diğerleri, 2008; Fehrenbacher, 2015).

Nöronal ve nöronal olmayan hücrelere girdikten sonra sisplatin mitokondriyel DNA'ya (mDNA) bağlanır ve mDNA eklentileri oluşturur. Bu patolojik ürünler onarılamaz. Çünkü,

mitokondride DNA onarım sistemi yoktur. Platin-mDNA eklentileri, antomal proteinlerin sentezine yol açabilen ve mitokondride solunum zincirinin bozulmasına neden olabilecek mDNA'nın fizyolojik replikasyonunu ve transkripsiyonunu bozar (Podratz ve diğerleri, 2011; Canta ve diğerleri, 2015; Kober ve diğerleri, 2018). Mitokondriyal fizyolojik fonksiyonun bozulması, hücrel metabolizmanın azalmasına, artan ROS üretimine ve oksidatif strese yol açar (Di ve diğerleri, 2012). Yapılan çalışmalarda sisplatinin kültürlenmiş Schwann hücrelerinde mitokondriyal disfonksiyona neden olabileceğini gösterilmiştir (Imai ve diğerleri, 2017).

2.1.3.4. Oksidatif Strese Bağlı Bozukluklar

Son zamanlarda, anti-kanser ilaçlarının neden olduğu yapısal ve fonksiyonel bozulmanın mitokondriyal olarak arttığı gözlenmiştir. Bu anlamda üretilen oksidatif stres demiyelinizasyon, mitokondriyal disfonksiyon, mikrotübüler hasar ve apoptoz nedeniyle nöronlarda fiziksel hasara neden olur (Xiao ve Bennett, 2012). Oksidatif stres, ROS üretimi ile biyolojik bir sistemin proksidanların etkisini kolayca karşılama yeteneği arasındaki dengesizliği yansıtır. Periferik nöronlarda meydana gelen oksidatif hasar, miyelin kılıfına, mitokondriyal proteinlere ve diğer antioksidan enzimlere zarar verebilir. Bu nedenle, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), sitrat sentaz ve ATP sentaz gibi mitokondriyal enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi ve nöropatinin tedaviye yanıtı izlenmesinde yardımcı olabilir (Areti ve diğerleri, 2014).

Bir hücrede normal redoks durumunda herhangi bir değişiklik, hücrelere zarar verebilecek oksidatif strese neden olur. Sisplatin, hücrelerdeki redoks dengesini konjugasyon ve böylece antioksidan glutatyonun tükenmesi ayrıca mitokondriyal solunumun bozulmasıyla ROS üretimine yol açarak değiştirebilir (Kruidering ve diğerleri, 1997; Davis ve diğerleri, 2001; Nishikawa ve diğerleri, 2001; Townsend ve diğerleri, 2009). Normal fizyolojik koşullar altında, hücreler, reaktif oksijen türlerinin üretimini temizleme sistemi (eliminasyonlu glutatyon GSH, süperoksit dismutaz-SOD ve katalaz-CAT) eliminasyonları ile dengeleyerek reaktif oksijen türleri düzeylerini kontrol eder. Ancak, oksidatif stres koşulları altında, aşırı reaktif oksijen türleri hücrel proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar verebilir, bu da hücrelerde kanserojeneze katkıda bulunan ölümcül lezyonlara yol açabilir. Kanser hücreleri, kısmen onkojenik

stimülasyon, artmış metabolik aktivite ve mitokondriyal hasar nedeniyle normal hücrelerden daha fazla reaktif oksijen türü stresi gösterir. Oksidatif stres, sisplatin toksisitesinde yer alan en önemli mekanizmalardan biridir. Mitokondri, sisplatin kaynaklı oksidatif stres için birincil hedef olup, mitokondriyal protein sülfhidril grubu kaybına, kalsiyum alımının inhibisyonuna ve mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına neden olur (Saad ve diğerleri, 2004).

Oksidatif strese maruz kalmak biyolojik fonksiyonları bozabilir. Sisplatin DNA hasarının yanı sıra hücre ölümünü tetikleyen reaktif oksijen türlerini de indükler. Hücre ölümü, çok sayıda sinyal yolunun hemen aktivasyonu üzerine meydana gelirken, kesin yollar kanser hücresine bağlıdır. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, sisplatin konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlıdır (Brozovic ve diğerleri, 2010). Hücre içi redoks homeostazı, tiyol grubu (SH) içeren moleküller tarafından korunur. Belirli koşullar altında bir tiyol grubu, moleküler oksijenle etkileşime girebilen ve böylece reaktif oksijen türleri üreten tiyil radikallerinin oluşumuna yol açabilir (Desoize, 2002). Aşırı miktarda ROS üretimi hem dışsal hem de içsel yollardan apoptozu indükleyebilir (Ozben, 2007). Apoptozun dışsal yolunda, reaktif oksijen türleri Fas ligand tarafından Fas ile aktivasyon için fosforilasyon yoluyla bir yukarı akış olayı olarak üretilir. (Gupta ve diğerleri, 2012). İçsel yolda ROS, Bcl-2 ve Bcl-xL proteinlerini aktive ederek ve aynı zamanda Bcl-2 ile ilişkili X proteini, Bcl-2 homolog antagonisti proteinleri inhibe ederek sitokrom c salınımını kolaylaştırma işlevi görür (Martindale ve Holbrook, 2002). Daha da yüksek bir reaktif oksijen türü seviyesi, kanser hücrelerinde hem apoptoz hem de nekroza neden olabilir (Hampton ve Orrenius, 1997). Reaktif oksijen türleri ayrıca, lipozomlarda bozulma için sitoplazmik içeriklerin (bitkin organeller ve protein agregatları) sekestrasyonunu içeren kendi kendine katabolik bir süreç olan otofaji yoluyla hücre ölümünü indükleyebilir (Shrivastava ve diğerleri, 2011).

2.1.3.5. Nöropatide İnflamasyon

Nörotoksik kimyasalların maruz kalması nedeniyle periferik sinir hasarı meydana geldiğinde, dolaşımdaki bağışıklık hücreleri ve sinir liflerinin yerleşik bağışıklık hücreleri, proinflamatuvar sitokinleri yaralanma bölgesine bırakmaya başlar (Watkins ve diğerleri, 2007). Kanla taşınan bağışıklık hücreleri hasarlı bölgeye sızdıkça, endonural şişlik ve kan dolaşımı bariyerinin parçalanması gibi fonksiyonel değişiklikler meydana gelir (Okamoto ve diğerleri,

2001), sinir dokusunun inflammatuar araçılara doğrudan maruz kalmasına izin verir. Sitokinler doku yaralanması veya iltihaplanmaya yanıt olarak salınan immünomodülatörlerdir. Çevredeki hücreler ve kimyasal yaralanmaya tepkisini modüle eden proinflammatuar ve antiinflammatuar özelliklere sahip olabilirler (Zhang ve An, 2007). Periferik sinir sisteminde proinflammatuar sitokinler sadece inflammatuar aktivasyon yoluyla aksonal hasara katkıda bulunmakla kalmaz, aynı zamanda spontan nosiseptör duyarlılığını ve aktivitesini de düzenler (Cunha ve diğerleri, 2005; Scholz ve Woolf, 2007) ve böylece bağışıklık ile periferik sinir sistemlerini bağlar (Sommer ve diğerleri, 2004). Yapılan çalışmalarda proinflammatuar sitokinlerin ağırlı periferik nöropatinin gelişimi ve sürdürülmesinde kritik bir rolü olduğunu göstermektedir (Marchand ve diğerleri, 2005; Scholz ve Woolf, 2007; Uceyler ve diğerleri, 2010). Schwann hücre bozulması ile ilişkili sinir yaralanması, makrofajların yer değiştirmesine ve daha sonra sitokinlerin salınmasına neden olur (Tofaris ve diğerleri, 2002). Sitokinler bağışıklık, iltihaplanma ve hematopoise aracılık eden ve düzenleyen küçük, salgılanan proteinlerdir. Bu proinflammatuar moleküller hiperaljeziye ek olarak Wallerian dejenerasyonunu teşvik eder. Benzer şekilde, kemoterapi ilaçlarının intravenöz uygulanmasından sonra, DRG ve periferik sinirlerdeki nöronlar ve çevresindeki uydu hücreleri, allodini ve hiperaljezi ile birlikte önemli patolojik değişiklikler gösterir (Wang ve diğerleri, 2012). Sinir hasarından sonra interlökin (IL)-1 ve IL-6 gibi yüksek proinflammatuar sitokin seviyeleri bulunur ve bu moleküllerin salınımı baskılanarak nöropatik ağrı azaltılır (Guo ve diğerleri, 2007; Zhang ve An, 2007).

IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinler proinflammatuar sitokinlerdir. Hızlı bağışıklık yanıtın ortaya çıkmasında, inflammatuar değişikliklerin oluşmasında rol oynarlar. IL-1 sitokininin IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki alt ünitesi vardır. Bağışıklık sistemi hücreleri olan endotel hücreleri, monositler, mikrogialar ve lenfositlerden salınırlar (Dinarello, 2005). IL-1 β , yaralanmayı takiben sinir sisteminde ve dejeneratif hastalıklarda ekspresyonu artan proinflammatuar bir sitokindir (Allan ve diğerleri, 2005; Perrin ve diğerleri, 2005; Temporin ve diğerleri, 2008). IL-1 β , inflammatuar moleküller ve sitokinler gibi toksik araçların üretimini indükleyerek inflamasyona ve hücre ölümüne neden olarak nörodejenerasyona yol açar (Basu ve Krady, 2004). Bu nedenle sıklıkla olası bir terapötik hedef olarak kabul edilir. IL-1 β sinyalleşmesinin inhibisyonu, örneğin IL-1 reseptör antagonisti veya IL-1 β 'ya karşı nötralize edici antikor, nörodejenerasyonu azaltır (Touzani ve diğerleri, 1999). Diğer taraftan, IL-1 β 'nın sinir sistemi üzerine çeşitli yararlı etkileri de vardır. Bunlar, Schwann hücre proliferasyonunun teşvik edilmesi (Conti ve diğerleri, 2002), nöron sağkalımının doğrudan ve dolaylı gelişimi (Diem ve diğerleri, 2003), oligodendrosit remiyelizasyonu (Mason ve diğerleri, 2001) ve siyatik nöronal

olmayan hücreler tarafından sinir büyüme faktörünün sentezi (Lindholm ve diğerleri, 1987) şeklinde söylenebilir.

Büyük bir proinflatuar sitokin olan interlökin-6, bağışıklık hücreleri, vasküler endotel hücreleri, adipositler ve iskelet kası tarafından üretilir. Yaralanma ve enfeksiyona karşı inflammatuar yanıtların başlatılmasında ve modüle edilmesinde merkezi bir rol oynar (Maggio ve diğerleri, 2006). Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyarır, inhibe eder ve farklılaşmayı sağlar. Geniş kapsamlı biyolojik etkilere sahip inflammatuar bir sitokindir. İlk olarak B lenfositlerini immünoglobülin üretmeye teşvik eden B uyarıcı faktör 2 olarak tanımlanmıştır (Hirano ve diğerleri, 1986). IL-6, sinyal etkisi olmayan membrana bağlı IL-6 reseptörü (mIL-6R) ile etkileşime girerek biyolojik etkisini hedef hücreler üzerinde kullanır (Scheller ve diğerleri, 2014; Tanaka ve Kishimoto, 2014).

2.2. Sisplatin

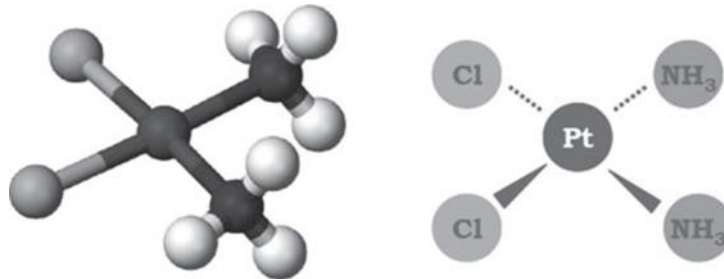
Sisplatin (MF-Cl₂H₆N₂Pt, CP) cis-diamminedikloroplatin II, insan solid tümörlerinin tedavisinde büyük rol oynayan en güçlü DNA modifiye edici kemoterapötik ilaçlardan biridir (Townsend ve diğerleri, 2009; Kang ve diğerleri, 2016). Testis, yumurtalık, akciğer kanseri, baş ve boyun kanseri, mesane ve gastrik gibi çeşitli kanserleri tedavi eden sisplatin Kuzey Amerika ve Avrupa'da en yaygın kullanılan antikanser ilaçlarından biridir (Reed, 2006).

2.2.1. Sisplatinin Moleküler Yapısı ve Özellikleri

1845'te Michael Peyrone tarafından sentezlenen ve karakterize edilen sisplatinin kimyasal yapısı ilk olarak 1893'te Alferd Werner tarafından açıklanmıştır (Lebwohl ve Canetta, 1998). 1965 yılında Amerikalı biyofizikçi ve kimyager Barnett Rosenberg tarafından sisplatinin antineoplastik ve antibakteriyel etkisi ilk olarak *Escherichia coli* adı verilen bir bakterinin platin elektrot aktivitesinden elde edilen ürünlerin hücre bölünmesinin inhibisyonu ile sonuçlandığını tesadüfen keşfedilmiştir (Rosenberg, 1965; Dipiro ve diğerleri, 2005; Goldman, 2007). Sisplatinin kanser hastası üzerinde uygulanması ilk kez 1971 yılında başlamıştır (Lebwohl ve Canetta, 1998). 1978 yılında Amerika Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) kanser kemoterapisinde

klirik kullanım için sisplatinini onaylamıştır (Chen ve diğlerleri, 2009; Florea ve Busselberg, 2011). Sisplatinin etkinliğini arttırmak ve toksisitesini azaltmak için, platin türevleri klinik çalışmalarda test edildi; ancak sadece birkaçı (karboplatin ve oksaliplatin) klinik uygulama için dünya çapında onay aldı (Chen ve diğlerleri, 2009; Shahid ve diğlerleri, 2018).

Kimyasal adı sis-diaminodikloroplatinum (II) ve moleküler formülü $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ olan sisplatin platin içeren antineoplastik ilaçtır. Moleküler yapısı sis pozisyonunda merkezde platin atomu etrafında iki tane klor ve amonyum atomlarıyla ile çevrilmiştir (Page ve diğlerleri, 1985; Lebwohl ve diğlerleri, 1998; Dkhil ve diğlerleri, 2013). Tesadüfen keşfinden bu yana sisplatin; yemek borusu, mesane, meme, testis, penis, serviks, over, özofagus, endometriyum, mezotelyum ve daha pek çok kanser türlerini içeren çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Prestayko ve diğlerleri, 1979; Lebwohl ve diğlerleri, 1998; Paolicchi ve diğlerleri, 2002; Townsend ve diğlerleri, 2009; Isakoff ve diğlerleri, 2015). Testis kanserinde, örneğın vinblastin ve ifosfamid veya bleomisin ve etoposidin iki ilacın sinerjistik rejimini kullanan sisplatin kombinasyon kemoterapisinin daha az toksisiteye ve daha yüksek kr oranına sahip olduğu gösterilmiştir (Loehrer diğlerleri., 1998; Einhorn, 2002). Sisplatinin antikanser özelliği henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Yapılan çalışmalarda sisplatinin kanserli hücrelerdeki DNA'larındaki prin bazlarına kovalent olarak bağlandığı DNA zincirlerinin kırılmasına neden olduğu böylece hücrelerin bölünmesine son vererek ortadan kaldırıldığı rapor edilmiştir (Loehrer ve diğlerleri, 1998; Einhorn, 2002; Tsang ve diğlerleri, 2009; Dugbartey ve diğlerleri, 2016). Vcoda intravenöz olarak alınan sisplatinin yaklaşık bir saat içerisinde plazmada en yüksek seviyeye gelir. Merkezi sinir sistemine geçişi kan beyin bariyerinin varlığı nedeniyle oldukça zayıftır. Minimum lethal dozu hakkında net bir bilgi olmasa da sisplatinin intravenöz olarak 180-480 mg/m² alınması önemli seviyede toksisiteye neden olabilir (Tsang ve diğlerleri, 2009).

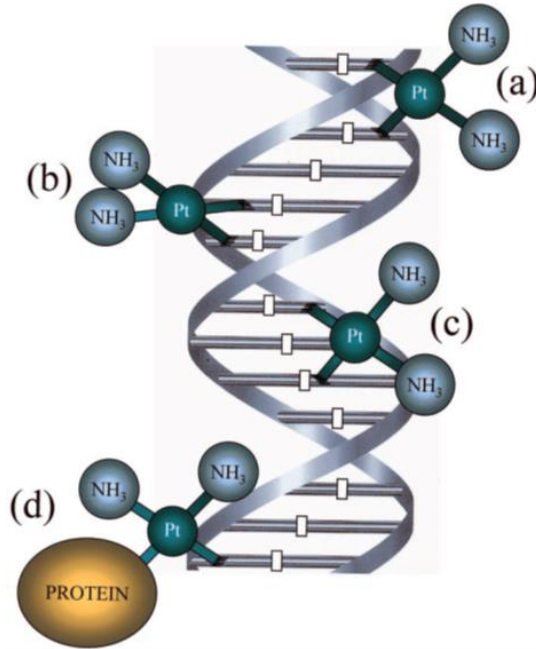


şekil 5. Sisplatinin moleküler yapısı (Snchez-Gonzlez ve diğlerleri, 2011).

2.2.2. Sisplatinin Etki Mekanizması

Kemoterapötik ilaçlardan biri olan sisplatinin antikanser özelliği henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar sisplatinin DNA'ya bağlandığı, hasarlı DNA şekillerine ve sonrasında DNA sentez ve replikasyonunun inhibisyonuna yol açan aynı iplikçik içinde veya zıt şeritlerdeki çapraz bağların oluşuma neden olduğunu gösterir . Meydana gelen DNA hasarı sonrasında apoptoz başlar. Hızla bölünene kanser hücrelerinin replikasyonu sisplatin DNA kompleksi tarafından inhibe edilir ve daha sonra bu hücreler çapraz bağlar tarafından yok edilir (Townsend ve diğerleri, 2009; Dzagnidze ve diğerleri, 2007).

DNA plastinasyonunun derecesi büyük olasılıkla hücrelerin çekirdeğine sisplatin alımı ve sonrasında birikme ile ilişkilidir (Siddik, 2003; Wang ve Lippard, 2005). Platin-DNA eklentileri; DNA hasarı, hücre döngüsü kontrol noktaları ve tutulması, DNA onarımı ve hücre ölümü gibi çeşitli hücresel yanıtları aktive eder (Saad ve diğerleri, 2009). Sisplatin, kanserli hücrelerde tedavisi mümkün olmayan ileri seviyede DNA hasarına sebep olmaktadır. Bunun sonucunda mitokondride hasar, hücre döngüsünde duraklama, hücre taşıma sistemlerinde bozulmaya ve hatta hücre ölümüne neden olmaktadır (Wang and Lippard 2005; Kelland 2007).



Şekil 6. Sisplatinin DNA ile etkileşmesinde oluşan ana eklentiler. (a) gruplar arası çapraz bağ, (b) 1,2-intrastrand çapraz-bağ. (c) 1,3 intrastrand çapraz bağ. (d), protein-DNA çapraz bağı (Gonzalez ve diğerleri, 2001).

2.2.3. Sisplatin Toksisitesi

Sisplatinin sitotoksik etki mekanizması, nükleer DNA'ya bağlanarak DNA replikasyon mekanizmasına müdahale etmesi ile açıklanmaktadır. Sisplatin çeşitli mekanizmaları kullanarak mitokondriyal geçirgenliği arttırabilir ve böylelikle apoptozu indükler. Bu apoptotik etki sisplatin toksisitesinde de yer almaktadır (Florea ve Büsselberg, 2009). Sisplatinin neden olduğu toksisiteye, mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) hücre içi sinyal yolları eşlik eder. MAPK yolları, çeşitli hücre dışı fiziksel ve kimyasal stresler ile aktive edilen serin / treonin kinazların bir dizi paralel kaskadlarıdır. Bu yollar hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını ve hücrenin canlı kalmasını düzenler. Hücre dışı düzenlenmiş kinaz (ERK), p38 ve Jun N-terminal kinaz/stresle aktive edilen protein kinaz (JNK/SAPK) enzimleri olmak üzere üç temel MAPK sinyal yolu vardır. ERK yolu hücre dışı büyüme faktörleri aracılığıyla aktive edilirken hem hücre sağkalımı hem de hücre ölümü ile ilişkilidir. P38 ve JNK/SAPK yolları ise çeşitli streslerle, oksidanlar, hiperozmolalite, UV ışınlanması ve inflamatuvar sitokinler ile aktive edilir. Bu yollarda hücre ölümüyle bağlantılıdır (Arany ve diğerleri, 2004; Yao ve diğerleri, 2007).

Sisplatin sitotoksitesinde ise oksidatif stres kaynaklı hasarın önemli etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Ksantin-ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH) ve mitokondriyonlar tarafından üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) oksidatif strese neden olur. Sisplatinin etkisi ile üretilen ROS, lipidler, proteinler ve DNA gibi önemli moleküllere zarar vermesinin yanı sıra süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH) gibi antioksidan enzimleri inhibe ederek antioksidan savunma sistemlerine zarar verir. Bu olay sonucunda meydana gelen serbest radikaller, proteinlerin denatürasyonuna ve lipidlerin peroksidasyonuna sebep olarak enzimlerin inaktif hale gelmesine ve mitokondriyal disfonksiyona neden olur (Rabik ve Dolan, 2007). Hücrede giderek artan serbest oksijen radikalleri nedeniyle meydana gelen lipid peroksidasyon mitokondriyal membranların permeabilitesini değiştirerek sitokrom C'nin mitokondriyal membrandan ayrılmasını sağlar ve böylece mitokondriyal hasar ortaya çıkar. Bu hasara yanıt olarak sitokrom C sitozole salınarak kaspaz-9 aktivasyonu ile kaspaz-3'ü aktive ederek apoptoza yani hücre ölümüne neden olur (Carvalho Rodrigues ve diğerleri, 2013).

2.2.4. Sisplatinin Klinikte Kullanımı ve Yan Etkileri

Sisplatin, akciğer, ağız, baş, boyun testis, over, endometriyum kanserlerinde tek başına veya diğer antineoplastik ajanlar (siklofosfamid, bleomisin, etoposid vb.) ile birlikte kullanılmaktadır. Ayrıca, baş-boyun kanserlerinde, servikal ve özefagus kanserlerinde radyoterapi ile birlikte kullanılır (Bogin ve diğerleri, 1994; Sheikh-Hamad ve diğerleri, 2004; Florea ve Büsselberg, 2009). Katı tümörlerin tedavisinde sisplatin ile diğer antineoplastik ajanların kombine şeklinde kullanılması daha etkili sonuç vermektedir. Sisplatinin terapötik etkisi doz artışıyla ilişkilidir. Doz miktarı arttıkça terapötik etki önemli derecede artmaktadır (Hanigan ve diğerleri, 2003; Florea ve Büsselberg, 2009). Sisplatin tek başına günde 100 mg/m² dozunda, başka ajanlarla birlikte kullanımında ise genellikle 20 mg/m² dozunda uygulanır (Kayaalp 1998).

Sisplatin, pek çok kanser çeşidinde kullanılabilen etkili bir kemoterapötik ajan olmasına rağmen bulantı, kusma, azalmış kan hücreleri üretimi gibi yan etkileri bulunmaktadır (Florea ve Büsselberg, 2011). Bunun dışında nörotoksisite, nefrotoksisite, hepatotoksisite, ototoksisite, myelosupresyon, periferik nöropati, gastrotoksisite ve alerjik reaksiyonlar gibi yan etkiler de meydana gelmektedir (Klaassen 2001; Zicca ve diğerleri, 2002; Hartmann ve Lipp, 2003; Galluzzi ve diğerleri, 2014).

2.3. Ultrases

Ultrases, 20 kHz'in üzerindeki insan kulağının işitemeyeceği bir frekansa sahip olan ses dalgasıdır. Ultrases, bir malzemenin parçacıklarının veya moleküllerinin mekanik titreşiminden oluşur. Her parçacık hareketsiz konumundan küçük mesafeler hareket etse de, titreşim enerjisi malzeme boyunca parçacıktan parçacığa giden bir dalga olarak yayılır. Ses dalgaları, her bir parçacığın titreşiminin yayılma yönüne paralel mi yoksa enine mi olduğuna bağlı olarak boyuna veya enine olarak sınıflandırılır. Tüm malzemeler boyuna ses dalgalarının yayılmasını destekleyebilse de, yalnızca katılar enine ses dalgalarını destekleyebilir. Akustik açıdan yumuşak dokular sıvı gibi davranır, bu nedenle kemik, enine ses dalgalarını destekleyebilen tek dokudur (Ziskin, 1992).

Ultrasound dalgasının parametreleri; frekans, basınç, dalga boyu, hız, güç ve yoğunluktur. Frekans, her bir parçacığın her saniye maruz kaldığı tüm salınımların sayısıdır. Tanısal ultrasonografik (US) uygulamalarında kullanılan frekanslar 1 ile 30 MHz ve daha yüksek frekans aralığıdır. Genel olarak frekans ne kadar yüksek ise ışın sapması o kadar küçük ve ışın genişliği o kadar dardır. İyi yanal çözünürlük için küçük ışın genişlikleri gereklidir. Güç ve yoğunluk, bir ultrasound dalgasının “gücünün” ölçüleridir. Güç, birim zamanda bir yüzeyden geçen toplam enerji miktarıdır ve watt cinsinden ifade edilir. Yoğunluk, birim zaman başına enerji konsantrasyonu, yani birim zamanda birim alan başına enerjidir ve santimetre kare başına watt cinsinden ifade edilir. Ultrasound ışınının genişliğine bağlı olarak yoğunluk değişir. Bu nedenle, odaklanan ses ışınlarında yoğunluk, ışın genişliğinin en dar olduğu odak noktasında en büyüktür. Darbeli ultrasound ışınlarında, en büyük yoğunluk değeri darbe sırasında oluşur ve darbeler arasında sıfırdır. Bu nedenle, akustik yoğunlukların zamansal-ortalama veya zamansal-tepe değerleri olup olmadıklarına ve uzamsal ortalama veya uzamsal-tepe değerleri olup olmadıklarına göre belirtilmesi gerekir. Çeşitli tıbbi uygulamalar için uzaysal-tepe, zamansal-ortalama yoğunluk değerleri Tablo 1’de verilmiştir (Ziskin, 1993).

Tablo 1. Tıbbi uygulamalarda kullanılan ultrasonik yoğunluklar

Uygulama	Yoğunluk (W/cm ²)
Cerrahi	>10
Terapötik	1-3
Tanısal Görüntüleme	< 0.1
Doppler	< 1.0

2.3.1. Ultrases Dalgalarının Biyofiziksel Etkileri

Ultrases dalgalarının biyofiziksel etkileri termal ve termal olmayan (nontermal) olmak üzere ikiye ayrılır (Baker ve diğerleri, 2001; Köken, 2014; Aksel, 2019). Termal olmayan etkiler kavitasyon ve diğer mekanik etkiler olarak ikiye ayrılır. Ultrasonun faydalı etkilerinin termalden daha ziyade termal olmayan etkileşim mekanizmalarından kaynaklanır (Haar, 1988). Ultrasonik titreşimlerin sonucu olarak dokularda küçük gaz kabarcıklarının oluşması kavitasyon olarak tanımlanır (Baker, 2001). Akustik kavitasyon, bir ses dalgası solüsyondaki mevcut boşluklar üzerine sinüzoidal olarak değişen bir basınç uygular (Leong ve diğerleri, 2011). Negatif basınç döngüsü sırasında, sıvı içinde “zayıf noktalar” olarak bilinen bu tür gaz halindeki kirlilik içeren yerlerde sıvı çekilir. Bu seyrelme döngüsü sırasında üretilen kabarcıkların sayısı, sıvıda bulunan bu tür zayıf noktaların yoğunluğu ile orantılıdır (Brennen, 1995). Kavitasyon veya kabarcık oluşumu için bilinen iki mekanizma vardır. Birinci mekanizma, sıvı içinde önceden var olan çözünmeye karşı stabilize edilen kabarcıklar içerir, çünkü yüzey organik kirlilikten oluşan bir deri gibi kirleticilerle kaplıdır. İkinci bir mekanizma, çekirdeklenmenin gerçekleştiği bu parçacıklarda gazın hapsediği sıvıdaki katı parçacıkların varlığına dayanır. Kabın duvarlarında gazın hapsediği küçük yarıklar da olabilir. Bir gaz yarığının içindeki basınç, dışarıdaki sıvı basıncından daha düşüktür. Sonuç olarak, gaz bulunduğu ortamda yayılır ve büyümeye neden olur. Sonrasında bir radyasyon kuvvetinin etkisi altında yarıktan ayrılırken bir kabarcık meydana gelir (Leong ve diğerleri, 2011).

Isı, nekroz ve apoptoz, anormal hücre göçü, değiştirilmiş gen ekspresyonu ve membran disfonksiyonu gibi çok çeşitli doku hasarı üretir. Termal maruziyetin, nöronal dokuda miyelinasyonda ve hücre hasarında olumsuz değişiklikler ürettiği gösterilmiştir (Miller ve Ziskin 1989). Ultrases, ışının odak alanındaki sıcaklığı artırır ve bu nedenle dokuda termal değişikliklere neden olma potansiyeline sahiptir. Ultrases frekansı, odaklanma, darbe süresi, maruz kalma süresi ve absorpsiyon katsayısı, ultrasona maruz kalma sırasında sıcaklık artışının birincil belirleyicileridir (Tablo 2). Sıcaklıkta böyle bir artış, ultrasonla indüklenen ısı üretimi oranı doku perfüzyonu yoluyla ısı dağılımını aşarsa meydana gelir. Hiçbir ısı kaybı olmadığı varsayıldığında, maksimum sıcaklık artışı doğrudan birim hacim başına ısı üretim hızı ve maruz kalma süresi ile ilgilidir (Shankar ve Pikel, 2011).

Ultrason ışının saçılması meydana gelmezse, soğurma katsayısı belirli bir doku tipindeki zayıflama katsayısına eşittir. Doğrusal olmayan yayılma meydana gelebildiğinden, ultrason ışını yolu boyunca akışkanla karşılaşırsa, sıcaklık artışı ihmal edilebilir, ancak doğrusal

olmayan yayılmanın termal indekslere katkısı, düşük ultrason yoğunluklarında genellikle ihmal edilebilir. Su ve biyolojik dokularda doğrusal olmayan yayılma oldukça farklıdır. Doğrusal yayılma, kemik gibi yüksek düzeyde emici dokularda baskındır. Ultrason odaklandığında daha yüksek bir yoğunluğa sahiptir; tersine, ultrason enerjisi daha geniş bir alana (odaklanmamış) dağıtıldığında yoğunluk azalır (Carstensen ve diğerleri, 1999; Shankar ve Pikel, 2011).

Tablo 2. Ultrasonun neden olduğu doku sıcaklık değişiklikleri

Ultrason Parametreleri	Doku Karakteristikleri
Frekans	Zayıflama
Odaklanma	Soğurma katsayısı
Darbe tekrarlama frekansı	Akustik empedans
Darbe süresi	Termal iletkenlik
Kendinden ısıtmalı dönüştürücü	Doku perfüzyonu

2.3.2. Ultrasesin Etki Mekanizması

Ultrason enerjisi, biyolojik etkiler oluşturmak için güçlü bir yöntemdir. Terapi için, ultrason sadece ısıtma yoluyla değil, aynı zamanda ultrasonik kavitasyon, mekanik stres veya termal olmayan mekanizmalar yoluyla etkilidir (Nyborg ve diğerleri, 2002). Biyolojik etkiler ile ilgili olarak, artan frekans, doğrusal olmayan akustik bozulma veya darbe uzunluğu, ısıtmayı artırabilir. Radyasyon kuvveti gibi bazı termal olmayan mekanizmaları geliştirebilir. Azalan frekans, kavitasyon olasılığını artırır. Artan güç veya yoğunluk, tüm biyolojik etki mekanizmalarının olasılığını ve büyüklüğünü artırma eğilimindedir. Terapötik ultrason cihazları, dokulara etkili ultrasonik enerji sağlamak için kısa darbeler veya sürekli dalgalar kullanabilir. Bazı cihazlar daha yüksek genlikte çalışır ve bu nedenle şok dalgalar üretme eğilimindedir (Fowlkes ve diğerleri, 2008).

Ultrasesin, canlı dokularda ki en önemli etkisi ısınmadır. Isınma olayı, dokularda iki farklı mekanizma ile ortaya çıkar. Birincisi, US enerjisi dokular tarafından emilerek ısıya

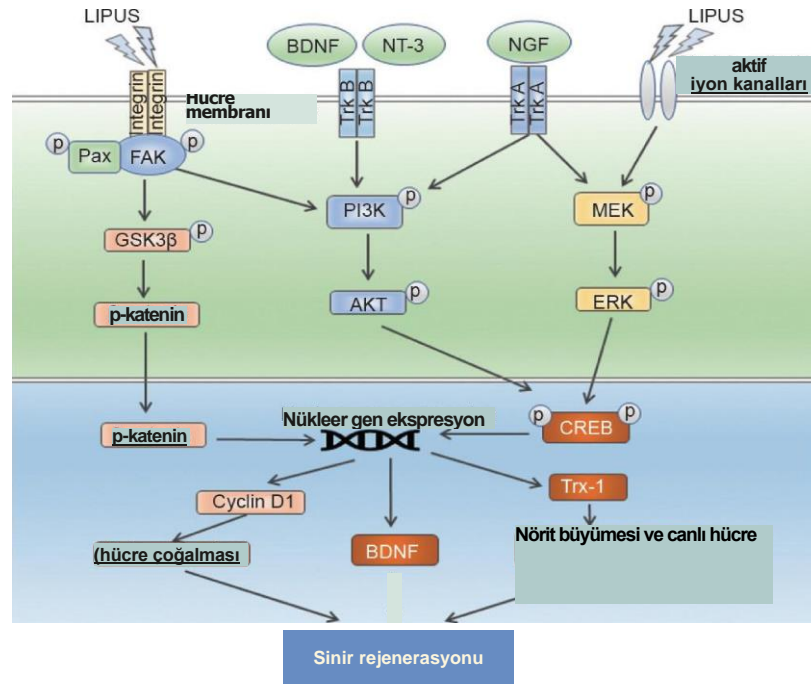
dönüşmesidir. Ortamın akustik empedansı ısınmanın derecesini belirler. Her ortamın akustik empedansı farklıdır; hava en küçük empedansa sahiptir ve sırasıyla yağ, kas, kemik ve su olarak sıralanabilir. Ultrases dalgaları dokulardan geçerken absorbe edilir ve ısı enerjisine dönüşür. Endorfinleri aerttiran ısı ağrı üzerinde etkili olabilir (Fowlkes ve diğerleri, 2008). İkinci mekanizma ise, birbirlerine komşu olan dokuların temas edilen yüzeylerinde sıkışma ve genleşme hareketi meydana getirerek mikromasaj etkisi yapmaktır. Böylece bölgesel kanlanma artar (Vykhodtseva ve diğerleri, 2001).

Ultrases ile ilgili toplam sıcaklık artışının %70 kadarı, maruziyetin ilk dakikasında meydana gelir, ancak maruz kalma süresi uzadıkça sıcaklık yükselmeye devam eder. Ultrason yoğunluğu ile sıcaklık artışı arasında doğrusal bir ilişki vardır (Carstensen ve diğerleri, 1990; Doody ve diğerleri, 1999). Ultrason yoğunluğu ve maruz kalma süresi doku sıcaklığında doğrudan artışa neden olurken, daha geniş bir ışın genişliği, enerjinin daha geniş bir perfüzyon bölgesine dağılmasına izin vererek sıcaklık artışının hızını ve derecesini azaltır (Shankar ve diğerleri, 2011).

Nöronlar ultrasesin olumsuz etkilerine karşı hassastır. Serebral doku nispeten düşük bir absorpsiyon katsayısına sahiptir, ancak ultrasona maruz kalma sırasında kafatası sıcaklığı artar ve iletim mekanizması yoluyla komşu beynin sıcaklığını yükseltir (Barnett, 2001). Bu durum özellikle Doppler ultrason modu kullanıldığında fetüste önemlidir. Doppler modu, kemikte en büyük sıcaklık artışlarını üretme potansiyeline sahip sabit bir moddur. Bu dolaylı termal etkilere ek olarak, ultrases de doğrudan sinirsel etkilere neden olur. Örneğin, yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrases daha önce beyinde yıkıcı lezyonlar üretmek için kullanılıyordu. Fry ve diğerleri (1958) odaklanmış ultrasesin nörol iletimin tersine çevrilebilir baskılanmasına neden olabildiğini gösterdi. Beynin yüksek yoğunluklu ($150-1,500 \text{ W/cm}^2$) ultrasese doğrudan maruz kalması da nörol apoptozun gösterdiği gibi termal ve kavitasyon etkileri ürettiği gösterildi (Vykhodtseva ve diğerleri, 2001).

Ultrasesin apoptozu indüklemeye özelliği vardır. Hücre ölümünü içeren apoptotik süreçlerin temel moleküler bileşenlerinin ekspresyonunu ayarlamak için ilgi çekici bir antineoplastik yaklaşımdır. Apoptoz modüle edici tedaviler, klinik öncesi hayvan modellerinde etkili olduğu görüldükten sonra insan klinik denemelerine geçilmiştir (Nicholson, 2000). Apoptozun en önemli düzenleyici unsurlarından biri tümör baskılayıcı ve proapoptotik protein olan p53'tür. Kanserin gelişmesini engelleyen genomun bu koruyucusu (Sherr ve diğerleri, 2002), anormal hücrelerin büyümesi üzerinde engelleyici etkiler gösterir. Bunun aksine, antiapoptotik, bcl-2 benzeri proteinler, tümör oluşumunu ve tümör ilerlemesini destekleyebilir (Strasser ve

diğerleri, 1995). Şimdiye kadar, apoptozu modüle etmek için en umut verici yaklaşımlar, lokal veya sistemik olarak verilmesi gereken biyokimyasal bileşikleri kullanarak bu hücre ölüm yollarının farklı bileşenlerini hedef almaktadır (Cory ve diğerleri, 2002). Bu tür biyolojik stratejilerin yerel sınırlamalarına ek olarak, apoptozun diğer anahtar sistemleri olumsuz etkilemeden bir organ veya hücre tipinde seçici olarak modüle edilip edilemeyeceği sorusu henüz net bir şekilde cevaplanmamıştır. Örneğin, başlıca engeller, bu bileşiklerin verilmesini veya rekombinant proteinler kullanıldığında ortaya çıkan bağışıklık tepkisini içerir. Düşük yoğunluklu darbeleri ultrasases, kültürlenmiş kondrositlerde bir integrin yoluyla PI3K/Akt yolunu aktive eder. Gönderilen sinyaller, hücre zarı üzerinde bir mekanoreseptör olarak görev yapan bir integrin aracılığıyla hücreye iletilir ve çeşitli fokal adezyon adaptör proteinlerinin bağlanmasını destekler. Fokal adezyon kinazı (FAK) ve Paxillin daha sonra hücrenin hayatta kalması, çoğalması, hareketliliği, hücre boyutunun kontrolü ve metabolizma dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlevlerde yer aldığı bilinen PI3K/Akt'ye sinyal iletimini başlatmak için fosforile edilir (Şekil 7). FAK aktivasyonu GSK3 β fosforilasyonunu uyarır ve nükleer translokasyonunu desteklemek ve hedef gen ekspresyonunu aktive etmek için Wnt/ β -katenin proteinini stabilize eder (Peng ve diğerleri, 2020).



Şekil 7. Periferik sinir rejenerasyonu için düşük yoğunluklu darbeleri ultrasases ile düzenlenen hücresel sinyal yolları (Peng ve diğerleri, 2020).

2.3.3. Ultrasesin Sinir Rejenerasyonu Üzerine Olan Etkisi

Periferik sinirler genellikle ezilme, kompresyon, gerilme veya bölünme ile hasar görür ve bazı modern tekniklerin uygulanmasına rağmen denervasyon periyodu, hasarlı sinir liflerinin tipi ve çapı, yaş ve diğer bireysel değişkenlerin etkisi nedeniyle nadiren tamamlanır (Ogard ve Stockert, 1994; Azze ve Mattar, 2000). Günümüzde elektrik, manyetik alan ve ultrason gibi fiziksel ajanların cilt, kemik, kas ve tendonlar ve periferik sinirler gibi farklı dokuların iyileşme sürecine önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Shen ve Zhu, 1995; Mendonca ve diğerleri, 2003).

Terapötik ultrases ile ilgili olarak ilk araştırmalar, ulnar ve radyal yüzeysel duyu sinirlerinin iletim hızında indüklenen değişikliklerde ele alınmış, iletim hızının ultrases uygulanmasının yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak arttığı veya azaldığı gösterilmiştir (Madsen ve Gerten, 1961; Zankel, 1966). Terapötik ultrases, sinir rejenerasyonunu destekleyen umut verici bir tedavidir (Crisci ve Ferreira, 2002; Ni ve diğerleri, 2017). Ultrasesi klinik bir ortamda periferik sinir rejenerasyonunu belirlemede kullanmak için US parametrelerini optimize etmek ve etkilerinin altında yatan mekanizmaları aydınlatmak gereklidir. US yoğunluğu en önemli parametrelerden biridir. Ancak periferik sinir rejenerasyonunu desteklemek için gereken etkili US yoğunluğunu belirlemeye yönelik çok az rapor vardır (Hong ve diğerleri, 1988; Akhlaghi ve diğerleri, 2012).

2.3.4. Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases

Düşük yoğunluklu darbeli ultrases, darbeli dalgalar türünde düşük yoğunlukta yanıtlar veren özel bir ultrason çeşididir. Düşük yoğunluklarda bir mekanik enerji formu olan düşük yoğunluklu darbeli ultrases, yüksek frekanslı akustik dalgalar olarak bir ortam yoluyla hücrelere ve dokulara iletilebilir. Genellikle elektrik gücünü, piezoelektrik mekanizma yoluyla mekanik enerjiye dönüştüren bir dönüştürücü tarafından üretilir. Düşük yoğunluklu darbeli ultrases periyodik mekanik ses dalgaları, ortam yoluyla iletilerek titreşimlere ve çarpışmalara neden olabilir (Khanna ve diğerleri, 2009; Jiang ve diğerleri, 2019). Hedefte minimum termal ve büyük termal olmayan etkilerle sonuçlanır (Baker ve diğerleri, 2001). Genel olarak, termal olmayan etkiler çoğunlukla kavitasyon, akustik akış ve mekanik stimülasyon vb. tarafından

indüklenen mikro kabarcıklar içerir (Baker ve diğerleri, 2001; Watson ve Young, 2008). Terapötik uygulamalar için invazif olmayan bir fiziksel uyaran olduğu gösterilmiştir. Düşük yoğunluklu darbeli ultrases, akustik enerjinin hedef dokuya iletimini korurken, düşük yoğunluğu ve darbeli çıkış özelliği nedeniyle minimum termal etkiye sahiptir (Miller ve diğerleri, 2012; Jiang ve diğerleri, 2019). Ultrases, 20 kHz'den büyük, insan duyulabilirlik sınırının üzerindeki frekanslarda bir akustik enerji biçimi olarak bilindiğinden, düşük yoğunluklu darbeli ultrases genellikle 1-3 MHz frekanslarını uygular. Düşük yoğunluklu darbeli ultrases tedavilerinin diğer parametreleri arasında 0.02-1 W/cm² uzaysal ortalama zamansal ortalama (SATA) arasında değişen ultrason yoğunluğu ve günde 5-20 dakikalık bir tedavi süresi bulunur (Awad ve diğerleri, 2012; Fontes-Pereira ve diğerleri, 2013; Savchenko 2017).

Düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin terapötik uygulamaları hem in vitro hem de in vivo olarak çalışılmıştır ve umut verici sonuçlar klinik çalışmalarda daha ileri araştırmalar için bir yol sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin olumlu etkilerini ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi, yumuşak doku rejenerasyonunun hızlanması, inflamatuvar yanıtların inhibisyonu ve nöromodülasyon gibi alanları içeren geniş uygulamalar için potansiyelini göstermiştir (Jiang ve diğerleri, 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında sisplatin ve melatonin (Cayman, Michigan, USA) mevcut olan en yüksek saflıkta temin edildi. Ayrıca, deneysel kısım için lipid peroksidasyon (MDA) kiti (Cayman, Catalog #10009055), süperoksit dismutaz (SOD) kiti (Cayman, Catalog #706002), Rat IL-1 β Elisa kit (Elabscience, E-EL-R0012), Rat IL-6 Elisa kit (Elabscience, E-EL-R0015), BCA protein analiz kiti (ThermoFisher, Catalog #23227), Western ECL substrat (BIO-RAD, Catalog #1705060), 10X RIPA liziz tamponu (Merck, Catalog #632424) ve proteaz inhibitör kokteyli (Sigma-Aldrich, Catalog #P8340) kullanıldı. Protein ekspresyon analizi için kaspaz-3 (Santacruz, CPP324-1-18 sc-56052), Bcl-2 (Santacruz, C-2 sc-7382), parkin (Santacruz, PRK8 sc-32282), β -aktin (Santacruz, C4 sc-47778) birincil antikorları ile görüntülemeye uygun anti-mouse seconder antikor (Cell Signaling) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışma Grupları

Çalışmada gerçekleştirilen tüm hayvan deneyleri, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak (Ek 1: Etik kurul karar no: 64583101/2019/012) Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilen ve ortalama 300-400 gram ağırlığında 50 adet erkek Wistar-albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar $22 \pm 1^\circ\text{C}$ çevre sıcaklığı, 12/12 saat aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, bağıl nem oranı (40-50%) ve havalandırılması kontrol

edilen semiklimatize laboratuvar koşullarında bulunduruldu. Tüm hayvanlar, uygulamadan 8-12 saat öncesine kadar yem yeme ve su içme serbestliğine sahiptiler (Resim 1).



Resim 1. Araştırma kapsamında kullanılan *Wistar albino* ratlar ve deneysel gruplar (n=10).

Sıçanlar, beş ayrı gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu. Çalışmada gerçekleştirilen uygulamaların zamanlaması Şekil 8’de gösterilmiştir.

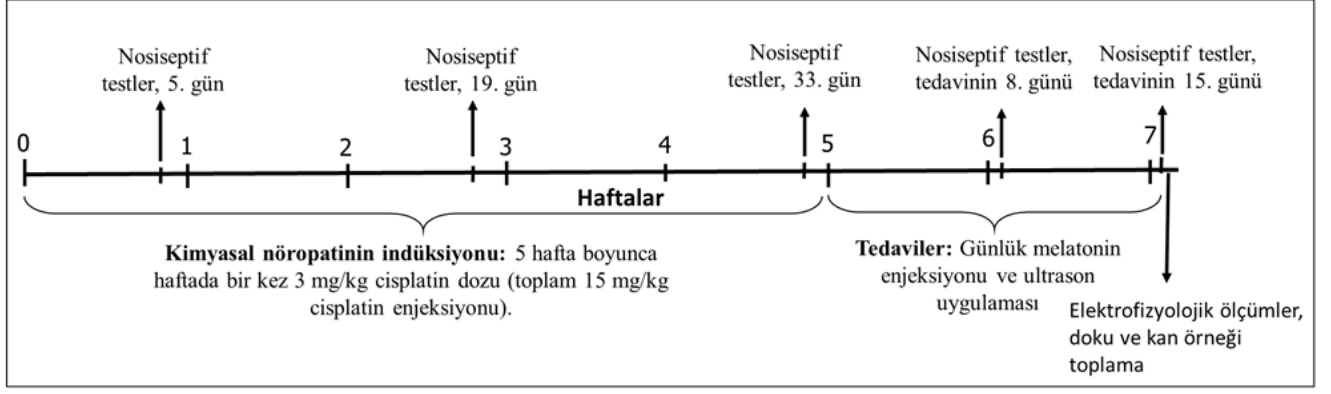
Grup 1: Kontrol grubu (C): Bu gruptaki denekler hiçbir işleme tabi tutulmadı, sadece tedavi sürecinde fizyolojik salin verildi.

Grup 2: Kimyasal nöropati grubu (CP): Bu gruptaki sıçanlara, 3 mg/kg sisplatin enjeksiyonu haftada bir kez (0, 7, 14, 21 ve 28 günlerde) 5 hafta boyunca uygulandı ve kimyasal nöropati oluşturuldu, tedavi sürecinde ise fizyolojik salin verildi.

Grup 3: 10 mg/kg melatonin grubu (CP+MEL, Pozitif kontrol): Bu gruptaki sıçanlara kimyasal nöropati oluşumundan sonra 10 mg/kg melatonin (i.p.) verildi.

Grup 4: 1 MHz frekans ve 0.5 W/cm² ultrases tedavi grubu (CP+0.5 W/cm² US): Bu gruptaki sıçanlara kimyasal nöropati oluşumundan sonra 0.5 W/cm² güç yoğunluğu ve 1 MHz frekansta günde 3 dakika darbeli ultrases uygulandı.

Grup 5: 1 MHz frekans ve 1.5 W/cm² ultrases tedavi grubu (CP+1.5 W/cm² US): Bu gruptaki sıçanlara kimyasal nöropati oluşumundan sonra 1.5 W/cm² güç yoğunluğu ve 1 MHz frekansta günde 3 dakika darbeli ultrases uygulandı.



Şekil 8. Deneysel prosedürlerin zamanlaması

3.2.1.1. Kimyasal Nöropati Modeli Oluşturulması

Kimyasal nöropati modelini oluşturmak için kemoterapötik bir ajan olan sisplatin kullanıldı. Sıçanlara intraperitoneal (i.p) olarak serum fizyolojik içinde (1:2) çözünmüş 3 mg/kg tek doz sisplatin uygulandı (Resim 2). Bu uygulama yedi gün arayla toplam beş haftada tamamlandı ve sıçanlara toplamda 15 mg/kg sisplatin enjekte edildi. Sisplatin enjeksiyonuna bağlı olarak gelişen böbrek hasarına engel olmak için enjeksiyondan önce 2 ml serum fizyolojik enjekte edildi (Sahu ve diğerleri, 2014). Kontrol ve nöropati gruplarına 3 mg/kg tek doz yedi gün arayla beş haftada tamamlanacak şekilde toplam 15 mg/kg fizyolojik salin enjekte edildi. Kimyasal nöropati oluşumundan sonra tedavi gruplarına ultrases ve ajan uygulaması, kontrol ve nöropati gruplarına ise salin uygulaması 15 gün boyunca devam etti. Salin uygulamasının amacı, tedavi gruplarına yapılan ilaç uygulamasına bağlı stres sürecini eşit kılmaktır.



Resim 2. Deneklere kimyasal nöropati modeli oluşturmak için sisplatin uygulanması

3.2.2. Tedavi Uygulanması

3.2.2.1. Melatonin Uygulanması

Sisplatin enjeksiyonunun beş hafta uygulanmasıyla oluşan kimyasal nöropati sonucunda sıçanlara 15 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda melatonin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Bu doz literatürde yer alan çalışmalara bakılarak seçildi. Yapılan çalışmalarda paklitaksel ve oksaliplatin ile indüklenmiş nöropatide mitokondriyel disfonksiyonu önleyerek nöroproteksiyon oluşturması nedeniyle melatonin pozitif kontrol olarak seçilmiştir (Areti ve diğerleri, 2017; Galley ve diğerleri, 2017).

3.2.2.2. Düşük Frekanslı Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases Tedavisi

Sisplatin ile kimyasal nöropati oluşturulan sıçanlara düşük frekanslı, düşük yoğunluklu darbeli ultrases uygulanması BTL5710 marka ultrases cihazı ile gerçekleştirildi. Ultrases uygulanmasında cihazın probu sıçanların bacakları üzerinde siyatik sinir üzerine denk gelecek şekilde deri bölgesi üzerine özel jel uygulamasıyla birlikte yerleştirildi ve yaklaşık 5 cm²'lik bir alana ultrases dalgaları verildi. Uygulanmış olan ultrases 1 MHz frekansında, 0,5 W/cm² ve

1,5 W/cm² olmak üzere iki farklı güç yoğunluğunda ve darbeli olarak (%20 duty cycle) toplam 3 dakika süreyle uygulandı. Bu tedavi hem sağ bacağa hem de sol bacağa ayrı ayrı uygulandı böylece her iki siyatik sinir de ultrasese maruz bırakıldı (Resim 3). Tüm tedaviye günde iki kez olmak üzere (sağ ve sol bacağa) olmak üzere 15 gün boyunca devam edildi. Düşük frekanslı, düşük yoğunluklu darbeli ultrases uygulamasının detayları literatüre bakılarak tespit edildi (Raso ve diğerleri, 2005).



Resim 3. Deneklere ultrases tedavisi uygulanması.

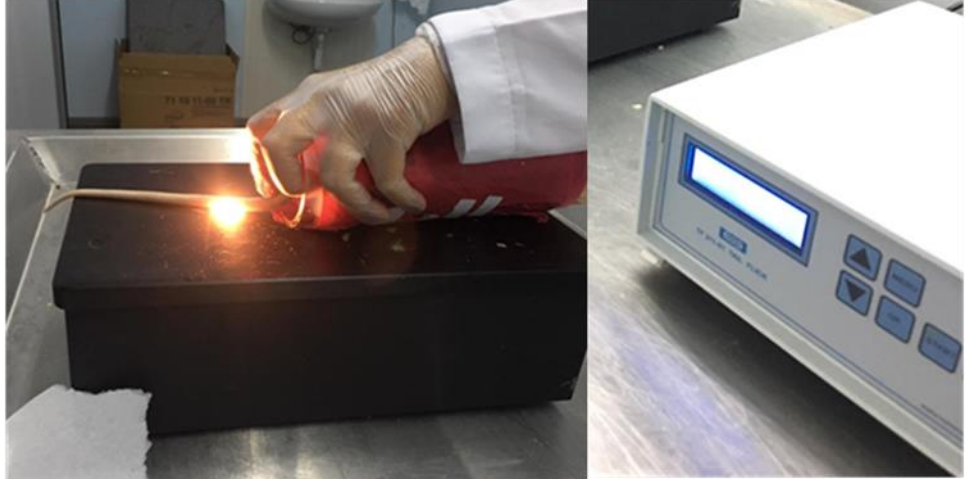
3.3. Nosiseptif Testler

Sisplatin uygulamasının duysal sinirlerin fonksiyonlarından nosiseptif ağrı algısındaki değişimin gözlenebilmesi için tüm gruptaki deneklere nöropati oluşturulmadan önce, sisplatin uygulaması sırasında haftada bir kez ve nöropati oluşturulduktan sonra tedavi sürecinde haftada bir kez tail flick ve hot plate testi uygulandı.

3.3.1. Tail Flick Testi

Tail-flick testi için 8V/50W'lık radiant ısı kaynağı içeren yarı otomatik (tail-flick cihazı-May Tic. Ankara) kullanıldı. Tail-flick testinden en az 5 dakika öncesine kadar sıçanlar kafeslerinde dinlenme durumunda tutuldu. Isıtıcı kaynağı tüm sıçanların kuyruklarının alt

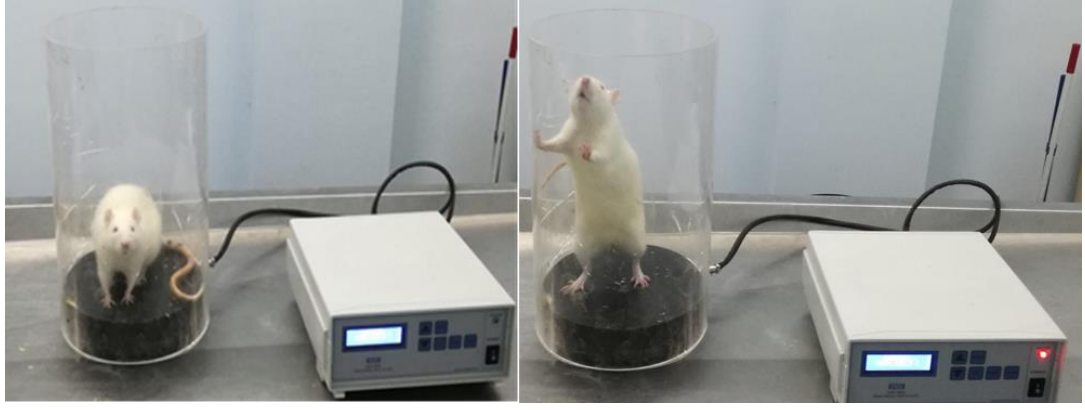
kısının 1/3'üne gelecek şekilde tutuldu. Isı etkisiyle sıçanların kuyruklarını çekmeleri cihaz tarafından otomatik olarak algılandı ve ısı uyarısı kesildi. Bu sonuç termal uyarıya yanıt olarak değerlendirildi. Isı etkisiyle kuyrukta meydana gelebilecek hasarı engellemek amacıyla cut-off zamanı 10 saniye olarak tespit edildi (Resim 4).



Resim 4. Deneklere Tail-flick testi uygulanması.

3.3.2. Hot Plate Testi

Hot-plate testi için, önceden ısıtılmış (55 ± 0.3 °C) daire şeklinde metal düz yüzeye sahip hot-plate (May Tic., Ankara) cihazı kullanıldı. Cihaz ısıtıldıktan sonra sıçanlar metal plakanın üzerine konuldu ve sonrasında arka ayaklarını yalama, sıçrama, idrar yapma gibi tepki verme süreleri termal uyarıya yanıt olarak değerlendirildi. Sıçanlarda ısıdan dolayı meydana gelebilecek herhangi bir hasarın engellenebilmesi için cut-off zamanı 15 saniye olarak kabul edildi (Resim 5).



Resim 5. Deneklere Hot-plate testi uygulanması

3.4. Elektrofizyolojik Ölçümler

Sisplatin ile nöropati oluşturulan sıçanlara verilen 15 günlük tedavi sonunda denekler sakrifiye edilmeden hemen önce elektrofizyolojik ölçümler yapıldı ve bu ölçümler analiz edilerek değerlendirildi. Denekler tedavi sonrasında elektrofizyolojik ölçümleri için 50 mg/kg ketamin (Alfamine %10, Alfasan, Hollanda) ve 10 mg/kg ksilezin (Alfazyne %2, Alfasan, Hollanda) ile intraperitoneal olarak anestezi edildi ve sıçanların siyatik sinirleri orta uyluk düzeyinden yaklaşık 3 cm'lik bir kesi ile ortaya çıkarıldı (Resim 6). İletisi ölçülecek siyatik sinir üzerine Biopac MP100 sistemine bağlanan aralarında 1.1 cm sabit uzaklık bulunan in vivo dastre elektrotlar ile 7 mV düzeyinde supraksimal şiddette uyarı verildi. Kayıt iğne elektrotlar ile parmak arasından alındı. İlk olarak 1. uyarı elektrodundan 0,1 ms süre 1 Hz frekas ve 7 mV şiddetinde uyarı verildi. Parmak arasından kayıt alındı ve bir amplifikatör aracılığıyla bilgisayar ortamına aktarıldı. Benzer şekilde 2. uyarı elektrodu vasıtasıyla sinire uyarı verildi (0,1 ms süre, 1 Hz ve 7 mV) ve tekrar parmak arasından birleşik aksiyon potansiyeli kaydedildi. Elde edilen birleşik kas aksiyon potansiyellerini içeren kayıtlar AcqKnowledge Software Windows/PC (Biopac, ABD) veri analiz sistemi yazılımı ile incelendi.



Resim 6. Sinir ileti hızı ölçümü yapılan denek

AcqKnowledge Software Windows/PC (Biopac, ABD) programı kullanılarak kayıtlardan, tüm gruplara ait distal latans, proksimal latans, bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitütü, bileşik kas aksiyon potansiyeli süresi (cevabın toplam süresi, durasyon) ve maksimum yanıtın altında kalan alan hesaplandı. Ayrıca, latans bilgileri kullanılarak sinir iletim hızları hakkında bilgi elde edildi. Motor sinir ileti hızları;

$$\text{İletim hızı} = \Delta \text{Mesafe} / \Delta \text{Latans (m/s)}$$

$$\Delta \text{Latans} = \text{Proksimal latans} - \text{distal latans (s)}$$

$$\Delta \text{Mesafe} = \text{Proksimal mesafe} - \text{distal mesafe (m): 1.1 cm}$$

bağıntıları kullanılarak hesaplandı (Baslo, 2009).

Elektrofizyolojik ölçümler sonunda denekler anestezi altında sakrifiye edildi. Biyokimyasal ölçümler için anestezi altında bulunan deneklerden kalpten kan alındı. Kan örnekleri hemen santrifüj edilerek serum ve plazma olarak ayrılarak -80°C’de kullanılacakları zamana kadar saklandı. Denekler sakrifiye edildikten sonra çıkarılan siyatik sinir dokularından bir kısmı histolojik analizler için %10’luk formaldehit içerisinde fikse edilerek parafine gömüldü. Kalanı ise diğer biyokimyasal ve moleküler analizler için kullanılacakları zamana kadar -80°C’de saklandı.

3.5. Western Blot Yöntemi

3.5.1. Doku Lizatının Hazırlanması ve Uygulanması

Doku lizatının hazırlanması için çalışma sonunda sıçanlardan çıkarılan siyatik sinirler homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi için Lizis tamponu hazırlandı.

Lizis Tamponu: 10 ml için; EDTA 100 μ L (0.5 M, pH=8), Tris 500 μ L (1 M pH=8), NaCl 1,5 ml (1 M), dH₂O 7,550 ml, NP40 250 μ L, Aprotinin 55 μ L, PMSF 45 μ L, Protein inhibitör kokteyl (PİK) 10 μ L

Doku homojenizasyonu sırasındaki bütün işlemler buz üzerinde yapıldı. Hassas terazi üzerinde ilk olarak boş ependorf tartıldı ve doku parçası tartıldıktan sonra doku ağırlığı not edildi. Doku üzerine 10 μ L protein inhibitör kokteyli ve 0,02 gr için 600 μ L lizis tamponu eklendi. Sonikatörde (Bandelin Ultrasonic HD2200) 3 siklus şeklinde parçalandı (Resim 7). Bu işlem sonunda doku lizatı 1 saat buz içerisinde bekletildi ve 10 dk arayla vortekslendi. Santrifüj +4⁰C de önceden soğutuldu ve doku lizatı 1500 g'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant pelete değmeden dikkatli bir şekilde çekilerek başka bir ependorfa alındı.



Resim 7. Sonikatörde doku lizatının parçalanması.

Doku lizatı oluşturulduktan sonra Bradford yöntemiyle jelde yürütülecek doku lizatı konsantrasyonları belirlendi. Sonrasında örnekler SDS poliakrilamid jel elektroforezi ile örnekler kuyucuklara yüklenerek yürütölme işlemi gerçekleştirildi.

3.5.2. SDS-PAGE Elektroforez

SDS-PAGE elektroforez sistemi için hazırlanan stok solüsyonlar aşağıda verilmiştir:

- **%30 Akrilamid/Bis** → 87,6 g akrilamid (29,2 g/100 ml)
→ 2,4 g N,N-bis-metilen-akrilamid (0,8 g/100 ml)
- **%10 SDS** → 10 g SDS 90 ml distile su ile çözünür.
- **1,5 M Tris-HCl** → 27,23 g Tris base (18,15 g/100 ml)
→ 80 ml distile su

Tampon çözeltisi distile su (dH₂O) ile 150 ml'ye tamamlandıktan sonra pH 8.8'e HCL ile ayarlandı.

- **0,5 M Tris-HCl** → 6 g Tris base
→ 60 ml distile su

Tampon çözelti dH₂O ile 100 ml'ye tamamlandıktan sonra pH 6.8'e HCl ile ayarlandı.

- **2X Numune Tamponu** → 3,55 ml dH₂O, 1,25 ml 0,5 M Tris-HCl (pH 6.8), 2,5 ml gliserol, 2 ml %10 SDS, 0,2 ml % 0,5 bromofenol mavisi toplam hacim 9,5 ml.

Kullanımdan hemen önce 50 µl β-merkaptethonol 950 µl numune tamponu içine konuldu.

- **10X Running Buffer, pH 8.3** → 30,3 g Tris base
→ 144 g glisin
→ 10 g SDS

Toplam hacim dH₂O ile 1000 ml' ye tamamlanarak çözündü.

- **%10 APS** → 100 mg amonyum persülfat 1 ml dH₂O ile çözündü.
- **10X TBST Buffer** → 24,23 g Tris (200 mM)
→ 87,66 g NaCl (1,5 M)
→ 10 ml Tween-20

Toplam hacim 1000 ml olacak şekilde dH₂O ile çözüldü

- **PVDF Membran Transfer Buffer** → 5,82 g Tris
→ 2,93 g Glisin
→ 200 ml metanol
→ 0,375 g SDS

Toplam hacim 1000 ml olacak şekilde dH₂O ile çözüldü. Kullanımdan hemen önce metonal eklendi.

Tablo 3. Alt ve üst jellerin hazırlanması için gerekli olan malzemeler ve oranları

	Resolving gel (Alt jel)	Stacking gel (Üst jel)
	%12	%4
dH₂O (ml)	3,4	6,1
%30 Akrilamid/Bis (ml)	4,0	1,3
Jel Buffer (ml)	2,5	2,5
%10 SDS (ml)	0,1	0,1
TEMED (µl)	5	10
%10 APS (µl)	50	50

Tüm stok çözeltiler hazırlandıktan sonra %12'lik alt jel hazırlandı ve jelin üzeri %70'lik etonolle kapatıldı. Jel donduktan sonra alkol kurutma kağıdı ile uzaklaştırıldı. Sonrasında %4'lük üst jel eklenerek camlar arasına taraklar yerleştirilmiş ve donma işlemi gerçekleştirilmiştir (Resim 8).



Resim 8. Elektroforez düzeneğinde cam levhaların yerleştirilmesi

Üst jel donduktan sonra taraklar çıkarıldı ve camlar tankın içerisine dikkatlice yerleştirildi. Örnekler kuyucuklara yerleştirilmeden önce 2X sample buffer ile 95⁰C’de 5 dk denatüre edildi (Resim 9).



Resim 9. Denatürasyon işlemi

Herhangi bir kuyucuğa 2 µl marker konuldu. Diğer kuyucuklara 25 µl örnek yüklemesi yapıldı. Örnekler yüklendikten sonra 10X Running buffer stok çözeltisinden 1X’lik alınarak yeteri kadar çözelti tank içerisine boşaltıldı ve 100 V’da yaklaşık 1 saat yürütme işlemi gerçekleştirildi (Resim 10).



Resim 10. SDS-PAGE jelinin elektroforezde yürütülmesi

3.5.3. Jelin Membrana Transfer Edilmesi

Elektroforez işlemi bittikten sonra jeller transfer için dikkatli bir şekilde hazırlandı. Membran %100 metanolde yaklaşık 2 dk kadar bekletildi. Blotlama kağıtları transfer çözeltisi içerisinde ıslak hale getirildi. Blotlama cihazının kapağı açılarak membran ve jel yerleştirilmeden önce temizlendi (Resim 11). Cihazın içerisine sırasıyla 2 kat ıslak blotlama kağıdı konuldu. Bunun üzerine sırasıyla membran, jel ve 2 kat ıslak blotlama kağıdı konularak cihazın kenarlarında ıslaklık kalmayacak şekilde temizliği yapıldı ve kapağı kapatıldı. Cihazın elektrik akımı açılarak 1.0 A, 25 V ve 30 dk süreye ayarlandı ve transfer işlemi gerçekleştirildi.



Resim 11. Blotlama cihazı

3.5.4. Membranın Antikor ile Muamele Edilmesi ve Görüntüleme

Membran 1 saat oda ısısında %3 BSA (750 mg BSA tartılarak 25 ml 1X TBS-T içerisinde çözündü) içerisinde orbital shaker üzerinde bekletildi. Sonrasında membran %3 BSA içerisinde 1:1000 konsantrasyonunda hazırlanan primer antikorlar ile gece boyu +4°C’de orbital shaker üzerinde inkübe edildi. Membran 3 kez 1X TBS-T ile yıkanarak (5 dk orbital shaker üzerinde 5x3=15 dakika) %3 BSA içerisinde 1:2000 konsantrasyonunda hazırlanan seconder antikor (anti-mouse IgG, HRP) konularak 2 saat oda ısısında orbital shaker üzerinde inkübe edildi. Bu işlem sonunda membran 3 kez 1X TBS-T ile yıkandı (5 dk orbital shaker üzerinde 5x3=15 dakika). Son olarak membran bir kez distile su ile yıkandı ve içerisinde su kalmayacak şekilde boşaltıldı. Membranların üzerine 300 µl ECL (Electrochemiluminescence) damlatıldı. Tüm jeller UVP görüntüleme sistemi ile ham görüntüleri alınarak elde edildi. Image J yazılım (MD, America 64 bit version) programı kullanılarak jel bantları kontrol grubuna göre optimize edildi.

3.6. Biyokimyasal Analiz

3.6.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Ölçümü

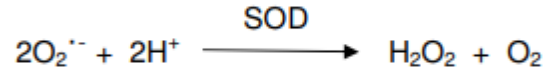
MDA, lipid peroksidasyon ürünlerindendir ve çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun en çok kullanılan ürünüdür. Araşidonik asidin ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) enzimatik veya enzimatik olmayan yollarla ayrışması sonucu oluşan son üründür. MDA ölçümünün temeli, tiyobarbitirik asit (TBA) ile reaksiyon vererek 532 nm dalga boyunda ölçülmesi ve renkli bir bileşik vermesine dayanır (Esterbauer ve diğerleri, 1991).

MDA seviyesi ölçümü kit yardımıyla yapıldı ve karışım kit içerisinde üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlandı. MDA düzeyinin ölçümü için öncelikle siyatik sinir doku örnekleri homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi için; 25 mg doku ağırlığı için 250 µl RIPA Buffer kullanıldı ve doku buffer içerisinde homojenize edildi. Santrifüj +4°C de önceden soğutuldu ve doku lizatı 1600 g’de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlem sonunda supernatant ayrı bir ependorfa konuldu. 100 µl doku homojenatı üzerine 50 µl sodyum dodesil sülfat (SDS) eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. Sonrasında 375 µl tiobarbitirik asit (TBA) ve 375 µl asetik asit eklendi, 60 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Bu süre sonunda örnekler 10 dakika buz üzerinde soğumaya bırakıldı. Soğutma

işlemi gerçekleştirildikten sonra +4°C 1600 g'de 10 dk santrifüj edildi. Örnekler 96'lık kuyucuklu kaplara konularak 532 nm'de MDA miktarı tayini yapıldı.

3.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve süperoksit anyon radikallerine karşı önemli bir antioksidan savunma sistemi olan SOD, süperoksit radikalini O₂ molekülüne yükseltger. Diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside (H₂O₂) indirgenmesini katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltır (Zelko ve diğerleri, 2002).



Süperoksit radikaller 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazoliyum klorid ile kırmızı renkli formazon boyasını oluşturmaktadır. Ortamda bulunan SOD enzimi süperoksit radikalleri ortamdan uzaklaştırdığı için formozan oluşumu inhibe olmaktadır (McCord ve diğerleri, 1969).

SOD seviyesi ölçümü kit yardımıyla yapıldı ve karışım kit içerisinde üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlandı. SOD düzeyinin ölçümü için öncelikle siyatik sinir doku örnekleri homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi için; 25 mg doku ağırlığı için 250 µl RIPA Buffer kullanıldı ve doku buffer içerisinde çözündü. Santrifüj +4°C de önceden soğutuldu ve doku lizati 1500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. SOD standart kuyucuklara 200 µl seyreltilmiş radikal dedektörü ve kuyucuk başına 10 µl standart eklendi. Örnek yüklenecek kuyucuklara 200 µl seyreltilmiş radikal dedektör ve 10 µl doku lizati konuldu. Son olarak örnek yüklenen tüm kuyucuklara 20 µl seyreltilmiş ksantin oksidaz eklendi ve 450 nm'de SOD miktarı tayin edildi.

3.7. Nöroinflamasyon İşaretçilerin Tayini

Sitokinler, hücre işaretlenmesinde önemli görev alan, bağışıklık ve inflamasyona aracılık edip bunları düzenleyen küçük proteinlerdir (Landskron ve diğerleri, 2014). Kanser patogenezinde ve inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan sitokinlerden birisi interlökin-6 (IL-

6)'dır. İmmün ve inflamatuvar olayların oluşumunda önemli rol üstlenen interlökin-1'e (IL-1) yanıt olarak meydana gelir (Kemik ve diğerleri, 2010).

Nöroinflamasyon işaretçilerin tayini Elabscience Rat IL-6 ELİSA ve Elabscience Rat IL-1 β ELİSA kitlerinin protokollerine göre gerçekleştirildi. Çalışma sonunda alınan kan örneklerinden elde edilen serumlardan analiz yapıldı. IL-6 ve IL-1 β analizi için numuneler 2-8°C'de 1000 g'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi ve supernatant toplandı. Her kuyucuğa 100 μ l standart veya numune eklendi ve 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Sonrasında sıvı uzaklaştırılarak 100 μ l Biotinylated Detection Ab eklendi 37°C'de 60 dakika inkübe işlemi gerçekleştirildi. Aspirasyon yapıp 3 kez yıkanarak 100 μ l HRP konjugatı eklendi ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında tekrar aspirasyon yapıp 5 kez yıkandı 90 μ l substrat reaktifi eklendi ve 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. 50 μ l durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'de okuma işlemi gerçekleştirildi.

3.8. Histolojik İncelemeler

Uygulanan tedavilerin ardından denekler sakrifiye edilmeden hemen öncesinde histolojik analizler için siyatik sinir dokuları çıkarılmıştır. Dokular formaldehitte saklanmıştır. Dokuların takibi için formaldehitteki dokular akar su altında bir gece boyunca bekletilmiştir. Dokulardan uzaklaştırılan formalin sonrasında dokuların içerisine nüfuz eden suyu uzaklaştırmak için yükselen alkol konsantrasyonlarında (sırasıyla %70, %80, %96 ve %100) 1'er saat bekletilmiştir. Sonrasında dokulardan alkolü uzaklaştırmak için önceden ısıtılan 60°C'lik etüvde ksilen içerisinde 1'er saat olmak üzere toplam 2 saat bekletilmiştir. Ksilen içerisinden alınan dokular 60°C'lik etüvde 1'er saat olmak üzere toplam 2 saat parafin içerisinde bekletildikten sonra dokular parafin bloklara (Tekkim, Türkiye) gömülmüştür. Her bir parafin bloktan, Plasma LS35 Mikrotom bıçağı ile rotary mikrotom (Leica RM 2265, Germany) kullanılarak 5 μ m kalınlığında kesitler alınmış, elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin, Luxol fast blue ve Masson trichrome boyama kitleri (Atom Scientific) ile kit içerisindeki talimatlar doğrultusunda boyanmıştır. Elde edilen boyanmış kesitler, Olympus-DP73 mikroskopunda 40X'lik büyütme ile görüntülenmiştir. Kesit alma ve boyama işlemini Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY tarafından yapılmıştır. Luxol fast blue ile boyanan görüntüler, ImageJ programı yardımıyla analiz edilerek akson çapı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı hesaplanmıştır (Authier ve diğerleri, 2003; Turedi ve diğerleri, 2018). Bu hesaplamalar, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp

Fakóltesi Biyofizik Anabilim Dalı doktora öğrencisi ve YÖK 100/2000 Nörofizyoloji programı bursiyeri Hatice Fulya YILMAZ tarafından yapılmıştır.

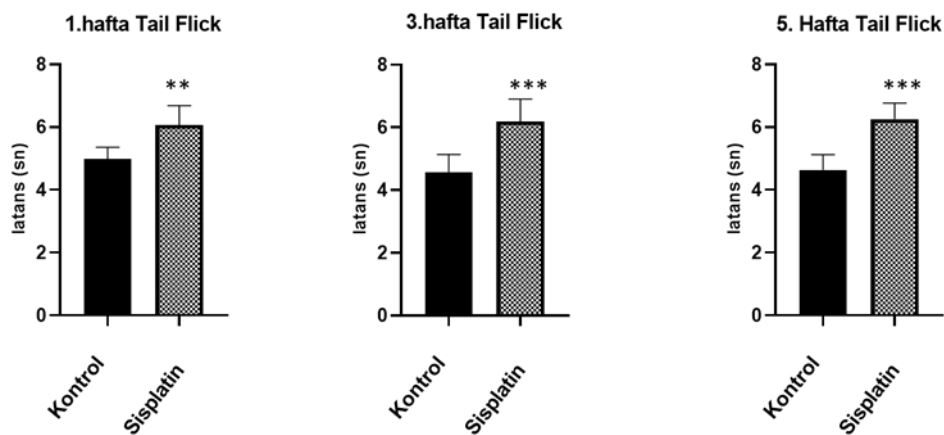
3.9. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki tüm parametrelerin karşılaştırılması SPSS Version 22 (IBM, ABD) programı kullanılarak yapıldı. Yapılan analizlerde öncelikle gruplar arasındaki normal dağılıma bakıldı, normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırılmasında nonparametrik testler kullanıldı. Western blot ve nöroinflamasyon işaretçilerin analizinde normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırılmasında *Kruskal-Wallis* nonparametrik testi uygulandı. Diğer tüm analizlerde verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve ikiden fazla grup arasındaki farklılığı göstermek için “tek yönlü varyans analizi” (one-way ANOVA), iki grup arasındaki farklılığı göstermek için T-test analizi uygulandı. Tek yönlü varyans analizi ile birlikte gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesi için ard test olarak Tukey testi kullanıldı ve tüm gruplar birbiriyle karşılaştırıldı. Yapılan değerlendirmelerde $p < 0,05$ sonucu istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi. Sayısal değerlerin tamamı aritmetik ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık kontrol grubuna göre * işareti ile, sisplatin grubuna göre ‡ işareti ile, melatonin grubuna göre † işareti ile ve 1 MHz 0.5 W/cm² US grubuna göre § işareti ile ifade edildi.

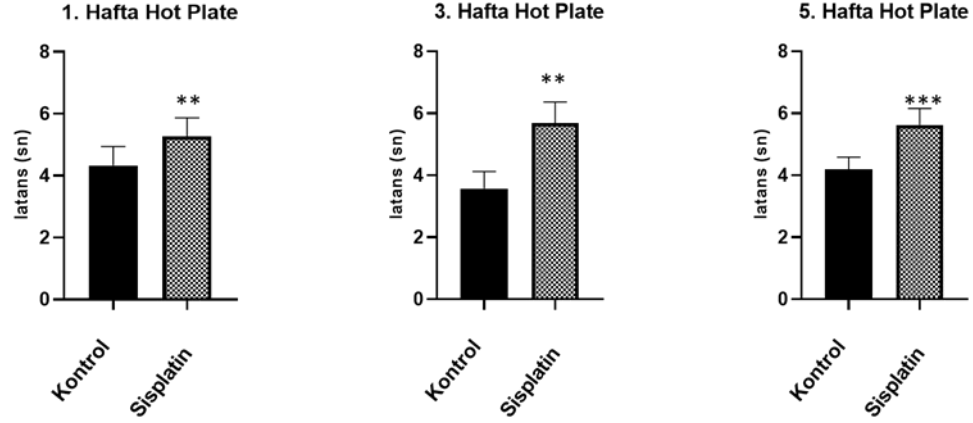
4. BULGULAR

4.1. Nosiseptif Test Sonuçlarının İncelenmesi

Bu çalışmada kemoterapötik bir ajan olan sisplatin haftada 1 kez (3 mg/kg/hafta) olmak üzere 5 hafta boyunca sıçanlara enjekte edildi. Nosiseptif testler haftada bir kez olmak üzere kimyasal nöropati oluşumu sırasında 5 hafta boyunca ve tedavi başlangıcında, ortasında ve sonunda yapıldı. Nosiseptif testlerin (hot plate ve tail flick) yapılmasındaki amaç; kimyasal nöropati oluşumu sırasında duysal ağrı algısındaki değişimleri gözlemlemek, ve bu değişimlerde nöropati oluşumu sırasında ve sonrasında tedavi sürecinde ne şekilde tepki verildiğini incelemek idi. Bu testlerde, sıçanların ısı ile verilen ağrılı uyarana karşı ne kadar sürede tepki verdiği incelendi. Şekil 9 ve 10'da 1, 3 ve 5. haftadaki tail-flick ve hot-plate test sonuçları gösterilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık SPSS Version 22 (IBM, ABD) kullanılarak analiz edildi. Verilerin öncelikle normalizasyon testi yapıldı, normal dağılıma uydukları görüldükten sonra T-test uygulandı. Yapılan incelemeler sonucunda $p < 0.05$ sonucu istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) gösterildi.



Şekil 9. 1, 3 ve 5. haftadaki Tail-flick test sonuçları (n=10, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)



Şekil 10. 1, 3 ve 5. haftadaki Hot-plate test sonuçları (n=10, **p<0.01, ***p<0.001).

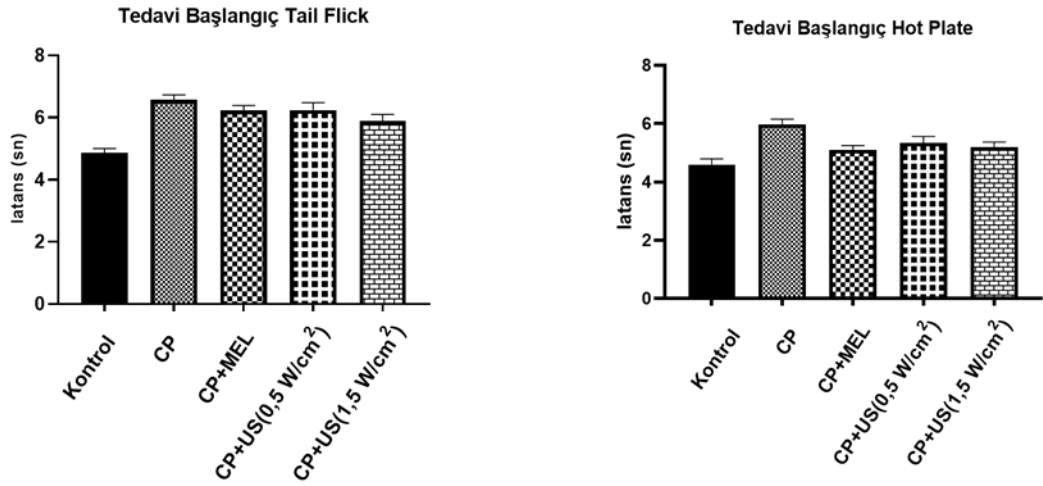
İlk beş haftada (1, 3 ve 5. hafta) yapılan nosiseptif test sonuçları birbirini destekler niteliktedir. Haftada 3 mg/kg i.p. olarak enjekte edilen sisplatin gruplarının kontrol grubuna göre termal uyarana karşı daha geç yanıt verdiği görüldü. Bu durum beş hafta boyunca uygulanan sisplatinin sıçanlarda kimyasal nöropatiye neden olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak da anlamlılık gösterdi (Tablo 4).

Tablo 4. Kimyasal nöropati oluşumu sırasındaki nosiseptif test sonuçları.

Nosiseptif Testler	Gruplar	1. hafta (sn)	3. hafta (sn)	5. hafta (sn)
Hot-Plate	C	4.33 ± 0.18	3.57 ± 0.16	4.19 ± 0.11
	CP	5.26 ± 0.09**	5.68 ± 0.10**	5.62 ± 0.08***
Tail-flick	C	4.99 ± 0.11	4.57 ± 0.17	4.75 ± 0.13
	CP	6.06 ± 0.09**	6.19 ± 0.08***	6.26 ± 0.07***

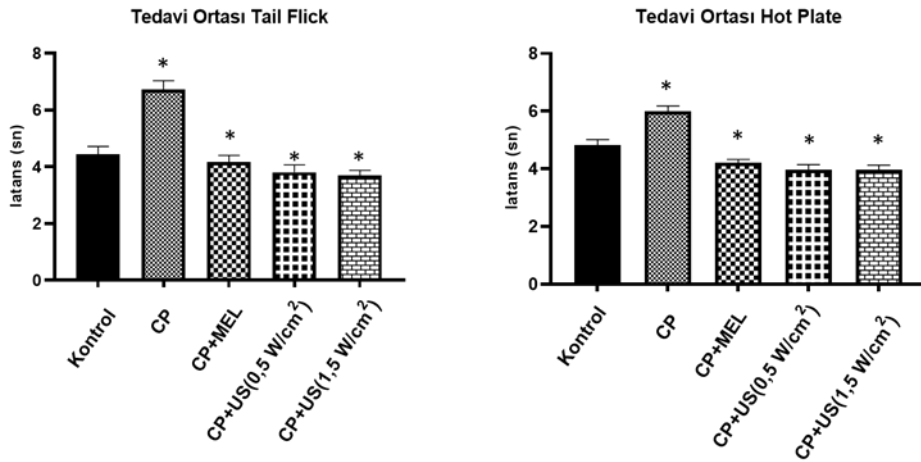
C: Kontrol, CP: Sisplatin (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

Kimyasal nöropati modeli oluştuktan sonra 15 gün boyunca tedavi süreci başladı. Tedavi grupları melatonin (pozitif kontrol), 1 MHz 0.5 W/cm² US ve 1 MHz 1.5 W/cm² US gruplarından oluşmaktadır. Melatonin grubuna 15 gün boyunca 10 mg/kg/gün i.p. olarak enjekte edildi. Ultrases gruplarına farklı güç yoğunluğunda sıçanların hem sağ hem de sol bacağına siyatik sinir üzerine denk gelecek şekilde 3'er dakika ultrases uygulandı. 15 günlük tedavi başlangıcı, tedavi ortası ve tedavi sonu nosiseptif test sonuçları sırasıyla Şekil 11, 12 ve 13'de gösterilmiştir.



Şekil 11. Tedavi başlangıcında nosiseptif test sonuçları.

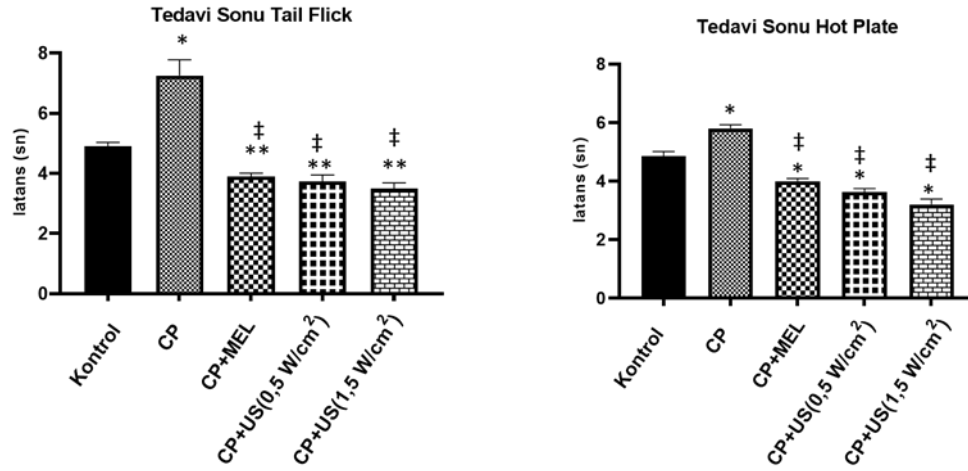
Beş haftalık sisplatin enjeksiyonundan sonra tedavi başlangıcında uygulanan nosiseptif test sonuçları birbirlerini desteklemektedir. Tek yönlü varyans analizi sonucunda, tedavi başlangıcında tail-flick test sonucu istatistiksel olarak $p=0,52$ ve hot-plate testi $p=0,64$ bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi.



Şekil 12. Tedavi ortasında nosiseptif test sonuçları (n=10, * $p<0.05$).

Tedavi ortasında yapılan tail-flick ve hot-plate sonuçları birbirini desteklemektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplar istatistiksel olarak anlamlılık gösterdiği

görüldü. Tedavi grupları incelendiğinde latans değerlerinin kimyasal nöropati grubuyla karşılaştırıldığında daha hızlı yanıt verdiği ve kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi.



Şekil 13. Tedavi sonunda nosiseptif test sonuçları (n=10, Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile, sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık † işareti ile gösterildi) (*p<0.05, **p<0.01).

Kimyasal nöropati modeli oluştuktan sonra 15 gün boyunca uygulanan tedavilerin nosiseptif test sonuçlarına göre etkili olduğu gözlemlendi. Deneklere uygulanan tail flick ve hot plate testleri incelendiğinde tedavi gruplarının sisplatin grubuna göre oldukça hızlı yanıt verdiği görüldü. Kimyasal nöropati grubu ile tedavi grupları arasındaki anlamlı farklılık istatistiksel olarak da desteklenmiştir (Tablo 5.). (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

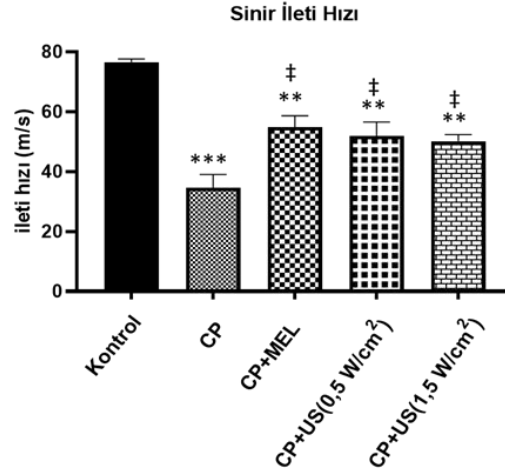
Tablo 5. Tedavi sonrası nosiseptif test sonuçları.

<i>Nosiseptif testler</i>	<i>Grup</i>	<i>Latans (sn)</i>		
		Tedavi öncesi	Tedavi ortası	Tedavi sonu
<i>Hot-plate</i>	C	4.60 ± 0.18	4.83 ± 0.17	4.86 ± 0.15
	CP	5.97 ± 0.18	5.86 ± 0.21*	5.81 ± 0.11*
	CP+MEL	5.10 ± 0.14	4.21 ± 0.11*	4.01 ± 0.09*,‡
	CP+US(0.5 W/cm ²)	5.33 ± 0.21	3.97 ± 0.16*	3.64 ± 0.10*,‡
	CP+US(1.5 W/cm ²)	5.20 ± 0.16	3.96 ± 0.16*	3.21 ± 0.17*,‡
<i>Tail-flick</i>	C	4.87 ± 0.12	4.45 ± 0.25	4.90 ± 0.12
	CP	6.57 ± 0.15	6.72 ± 0.29*	7.25 ± 0.48*
	CP+MEL	6.23 ± 0.15	4.18 ± 0.21*	3.88 ± 0.10**,‡
	CP+US(0.5 W/cm ²)	6.24 ± 0.22	3.81 ± 0.24*	3.72 ± 0.19**,‡
	CP+US(1.5 W/cm ²)	5.88 ± 0.21	3.69 ± 0.17*	3.42 ± 0.16**,‡

C: Kontrol, CP: Sisplatin, CP+MEL: Sisplatin+melotonin, CP+US (0.5W/cm², 1.5 W/cm²): Sisplatin+Ultrases (Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık *, sisplatin grubuna göre anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

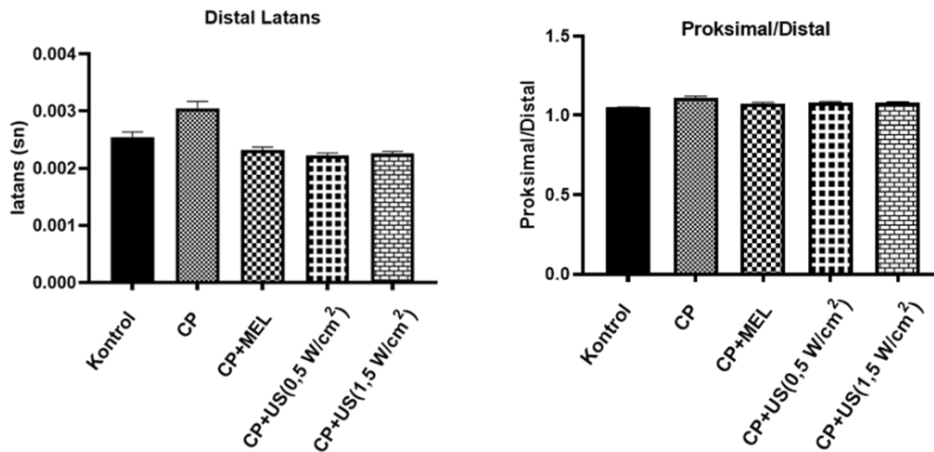
4.2. Elektrofizyolojik Ölçüm Sonuçları

Tedavi süresi sona erdiğinde denekler sakrifiye edilmeden hemen önce elektrofizyolojik ölçümler yapıldı. Kimyasal nöropati ile verilen hasarın ne düzeyde olduğu ve buna karşılık uygulanan tedavilerin ne kadar etkili olduğunu anlamak için alınan kayıtlar incelenerek sinir ileti hızı ölçümü, distal latans, amplitüt, alan ve kayıt süresi (durasyon) hesaplandı. Şekil 14’de gösterilen sinir ileti hızı ölçüm sonucu incelendiğinde sisplatin uygulanan grubun oldukça düşük iletim hızına sahip olduğu görülürken tedavi gruplarının uygulanan tedaviler sonucunda sinir iletim hızlarında anlamlı derecede artış olduğu görüldü. Özellikle 5 haftalık sisplatin enjeksiyonundan sonra uygulanan melatonin ve US (1.5 W/cm²) tedavi gruplarının kimyasal nöropati grubuna göre anlamlı ölçüde sinir ileti hızlarında artış olduğu gözlemlendi.



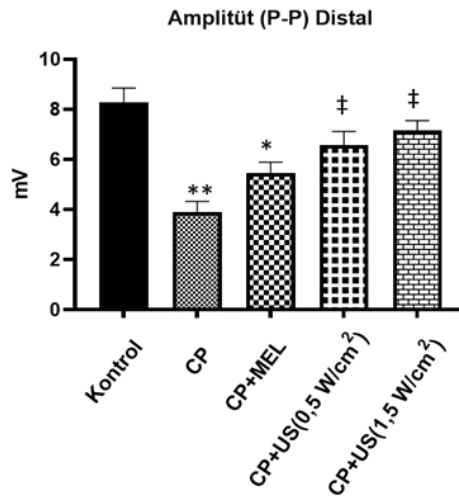
Şekil 14. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait sinir iletim hızları (n=10, Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile, sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık † işareti ile gösterildi) (**p<0.01,***p<0.001).

Distal latans ölçüm sonuçları incelendiğinde kimyasal nöropati grubunun distal latans değerinin uzadığı görülürken tedavi gruplarında latans değerinde kısalma olduğu gözlemlendi. Sisplatin ile oluşturulan kimyasal nöropati grubunda sıçanlarda aksonal kayıp meydana geldiği ve bu nedenle distal latansın uzadığı düşünülebilir. Tek yönlü varyans analizi sonucunda anlamlılık $P= 0,62$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir (Şekil 15). Hesaplanan proksimal/distal latans (P/D) oranlarında sisplatin grubunun kontrol ve tedavi gruplarına göre az miktarda yüksek çıktığı görüldü ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanamadı ($P=0,67$).



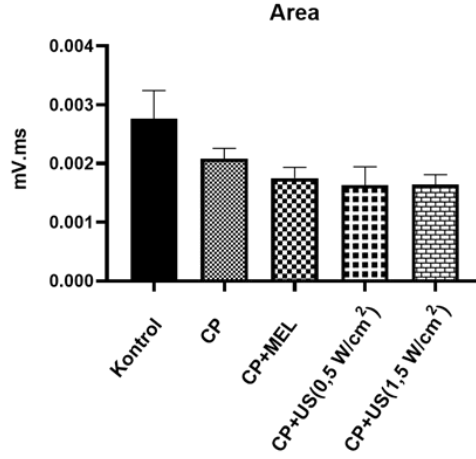
Şekil 15. Tüm grupların sağ ve sol siyatik sinirlerine ait distal latansları ve P/D oranı (n=10).

Şekil 16’da tüm gruplara ait amplitüt ölçüm sonuçları incelenmiştir. Kimyasal nöropati grubu incelendiğinde diğer gruplara göre aksonal kayıptan dolayı oldukça düşük bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüt (genlik) değeri gözlemlendi. Tedavi gruplarında ise kimyasal nöropati grubuna göre yüksek amplitüt değeri gözlenirken özellikle 1.5 W/cm² US grubunda kontrol grubuna yakın bir amplitüt değeri tespit edilmiştir. Ultrases ile tedavi edilen denekler sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık gösterirken kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir anlamlılık göstermemiştir.



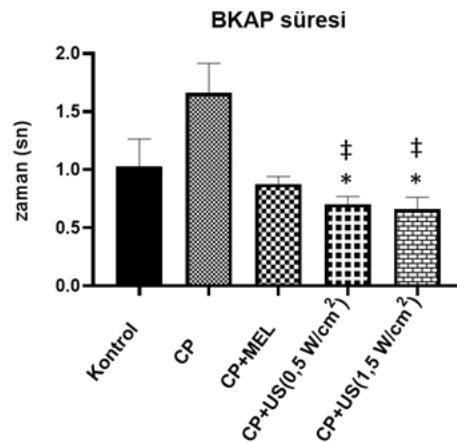
Şekil 16. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait amplitüt değerleri (n=10, Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile, sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık ‡ işareti ile gösterildi) (*p<0.05, **p<0.01).

Tüm gruplara ait bileşik kas aksiyon potansiyeli grafiği altında kalan alan (area) değerleri incelendiğinde tedavi gruplarının kimyasal nöropati grubuna göre düşük seviyede olduğu gözlemlendi. Tek yönlü varyans analizi sonucunda $P= 0,53$ bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir. (Şekil 17).



Şekil 17. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait BKAP alan/area değerleri (n=10).

Şekil 18’de tüm gruplara ait toplam bileşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) yanıt süresi görülmektedir. Kimyasal nöropati grubunda BKAP kayıt süresi değerinin uzadığı gözlemlenirken tedavi gruplarında bu değer azaldığı görüldü. Özellikle ultrases tedavi gruplarında sisplatin uygulanan gruba göre kayıt süresinin önemli derecede azaldığı gözlemlendi.



Şekil 18. Tüm grupların siyatik sinirlerine ait BKAP durasyon değerleri (n=10, Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile ifade edilirken sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık ‡ işareti ile gösterildi) (*p<0.05).

Gerçekleştirilen elektrofizyolojik ölçüm verileri kullanılarak hesaplanan deneklerin siyatik sinirine ait sinir ileti hızı, distal latans, tepeden tepeye amplitüt, alan (area) ve BKAP kayıt süresi (durasyon) değerleri Biopac MP100 yazılım sistemi ile hesaplandı (Tablo 6). Elde edilen veriler genel olarak incelendiği zaman kimyasal nöropati oluşturulduktan sonra uygulanan tedavilerin siyatik sinir üzerinde olumlu yönde etki ettiği gözlemlendi.

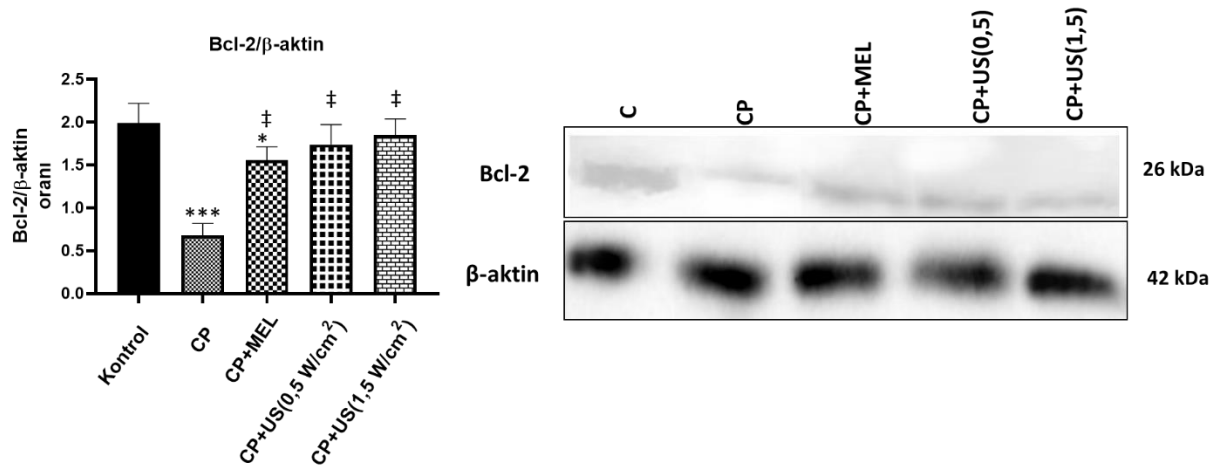
Tablo 6. Deneyisel gruplara ait elektrofizyolojik ölçüm sonuçları.

	C	CP	CP+MEL	CP+US 0.5W/cm ²	CP+US 1.5W/cm ²
Sinir ileti hızı (m/s)	76.65±0.43	38.07±0.32 ^{***}	54.92±0.24 ^{**‡}	51.98±0.12 ^{**‡}	50.25±0.14 ^{**‡}
Distal latans (ms)	0.0025±0.0010	0.0030±0.0011	0.0023±0.0020	0.0022±0.0013	0.0022±0.0010
Amplitüt (P-P) (mV)	10.18±0.23	3.91±0.39 ^{**}	5.46±0.21 [*]	6.57±0.10 [‡]	7.19±0.33 [‡]
Area/Alan (mV.ms)	0.0027±0.0004	0.0020±0.0001	0.0017±0.0001	0.00016±0.0002	0.00017±0.0001
BKAP süresi (ms)	1.02±0.22	1.86±0.24	0.87±0.05	0.70±0.06 ^{*‡}	0.66±0.09 ^{*‡}

C: Kontrol, CP: Sisplatin, CP+MEL: Sisplatin+melatonin, CP+US(0.5W/cm², 1.5W/cm²):Sisplatin+Ultrases. (Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile, sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık ise ‡ işareti ile ifade edildi) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

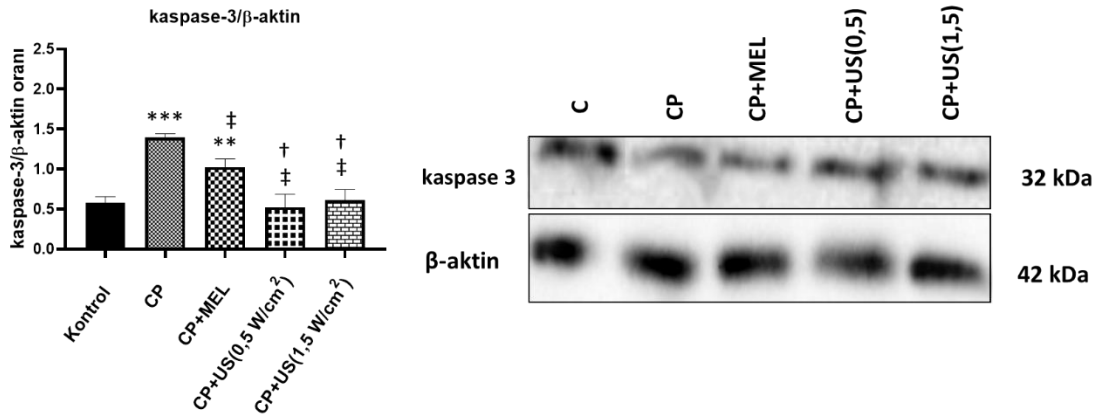
4.3. Western Blot Analizi Sonuçları

Western blot analizi için sıçanlardan alınan siyatik sinir doku örnekleri homojenize edilmiştir. Uygun oranlarda birincil ve ikincil antikorlar konularak görüntüleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde β -aktin gen ifadesi kontrol olarak kullanılmıştır. Elde edilen veriler ImageJ programı kullanılarak densitometre analizi (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Md) ile değerlendirilmiş ve ortaya çıkan bant yoğunlukları β -aktin ile normalize edilerek % değerler şeklinde grafik olarak ifade edilmiştir. Uygulanan tedavilerin apoptotik mekanizmalarını incelemek için Bcl-2 ve kaspaz 3 antikorları, mitofaji mekanizmasını incelemek için Parkin antikoru kullanılmıştır. Şekil 19 incelendiğinde sisplatin ile nöropati oluşturulan grupta Bcl-2/ β -aktin protein ekspresyon seviyesinin diğer gruplara göre düşük olduğu görüldü. Tedavi uygulanan gruplarda bu seviyenin yükseldiği görüldü. Ultrases tedavisi uygulanan grupların ekspresyon seviyesi melatonin grubuna göre yüksek çıkmıştır. Protein ekspresyon seviyelerindeki bu farklılıklar Bcl-2'nin antiapoptatik grupta yer alması ve apoptozu baskılayan bir yolak olması şeklinde açıklanabilir. Bu nedenle nöropati uygulanan grupta Bcl-2/ β -aktin oranının düşük çıkması apoptoz varlığını işaret edebilir. Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık * işareti ile, sisplatin grubuna göre istatistiksel anlamlılık ise ‡ işareti ile ifade edildi (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).



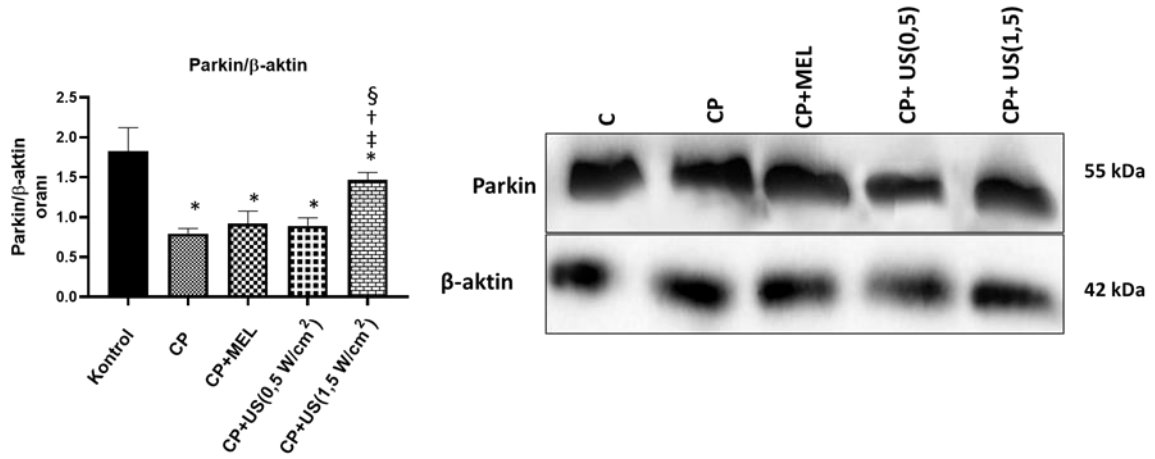
Şekil 19. Siyatik sinir dokularında uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Bcl-2/ β -aktin oranı ve membran görüntüsü (n=10, * kontrol grubuna, ‡ sisplatin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (* p <0.05, ** p <0.01).

Elde edilen veriler sonucunda ultrases tedavisi uygulanan gruplarda kaspaz-3 protein ekspresyon seviyelerinde azalış gözlenirken sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 20). Melatonin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gözlenirken sisplatin grubuna göre azalış olduğu görüldü. Ultrases tedavisi uygulanan gruplarda birbirleri arasında anlamlı farklılık görülmemesine rağmen 1 MHz 0,5 W/cm² US grubunun diğer ultrases grubundan daha düşük protein ekspresyonuna sahip olduğu görüldü.



Şekil 20. Siyatik sinir dokularında uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Kaspaz-3/β-aktin oranı ve membran görüntüsü (n=10, * kontrol grubuna, † sisplatin grubuna, ‡ melatonin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

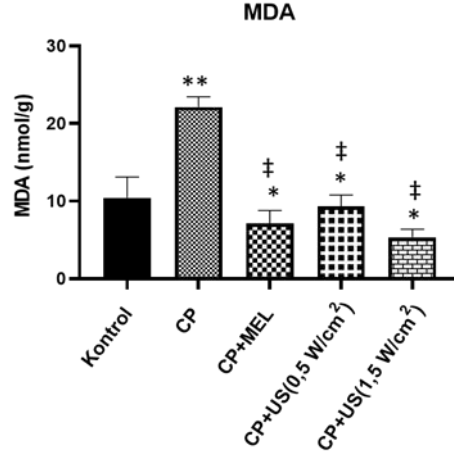
Şekil 21’de mitofaji ile ilgili bilgi veren parkin antikorunun protein ekspresyon seviyesi verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde tüm grupların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık gösterdiği gözlenmiştir. 1 MHz 1,5 W/cm² US tedavi grubunda parkin proteinin etkinliğinin diğer tüm gruplara göre oldukça yüksek seviyede olduğu görüldü. Disfonksiyonel mitokondrilerin ortadan kaldırılmasını sağlayan mitofaji en etkin şekilde 1,5 W/cm² ultrases tedavi grubunda kendini göstermektedir.



Şekil 21. Siyatik sinir dokularında uygulanan tedaviler sonrası western blot yöntemiyle elde edilen Parkin/β-aktin oranı ve membran görüntüsü (n=10, * kontrol grubuna, ‡ sisplatin grubuna, † melatonin grubuna, § 0,5W/cm² US grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05).

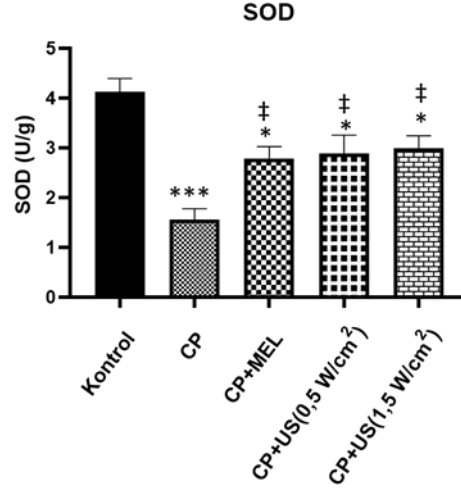
4.4. Biyokimyasal Analizlerin İncelenmesi

Sisplatin ile indüklenerek kimyasal nöropati oluşturulan sıçanların melatonin ve ultrases tedavilerinin siyatik sinir üzerindeki etki mekanizmalarından olabilecek oksidatif stres üzerine olan etkinlikleri MDA ve SOD seviyelerinin gözlenmesiyle incelenmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde kimyasal nöropati grubunun diğer tüm gruplardan yüksek bir MDA seviyesi gösterdiği bulunmuştur (Şekil 22). Uygulanan tedaviler sonrasında MDA seviyelerinde önemli derecede azalma olduğu görülmüştür. MDA miktarı artan peroksidasyonun son ürünü olarak sisplatin grubunda yükselmekte ve bu durum kimyasal nöropati sonucu artmış oksidatif stresi göstermektedir. Tüm gruplar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık göstermiştir.



Şekil 22. Tüm grupların siyatik sinir doku örneklerine ait MDA düzeyleri (n=10, * kontrol grubuna göre, ‡ sisplatin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05, **p<0.01).

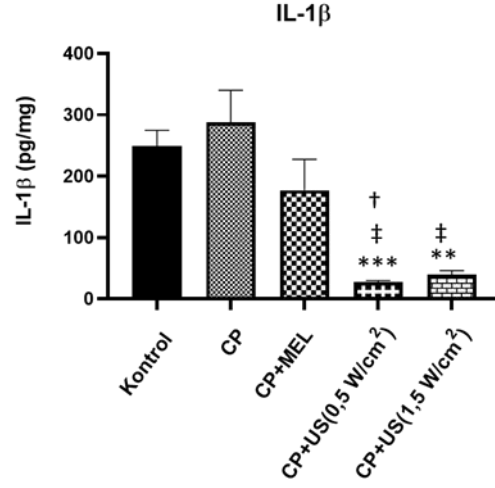
Uygulanan tedaviler sonrasında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen veriler ışığında sisplatin grubunun kontrol grubuna göre oldukça düşük SOD seviyesi gösterdiği gözlemlendi. Bunun yanında tedavi gruplarında sisplatin grubuna nazaran SOD miktarlarında anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü. Tedavi grupları arasında ise anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerin hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden enzimdir. SOD canlıyı hidrojen peroksit, süperoksit anyonu ve hidroksil radikallere karşı koruyucu etki yapmaktadır. Buna göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tedavi gruplarının SOD seviyesinde istatistiksel olarak bir azalma meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. Tüm grupların siyatik sinir doku örneklerine ait SOD aktivitesi düzeyleri (n=10, * kontrol grubuna göre, ‡ sisplatin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

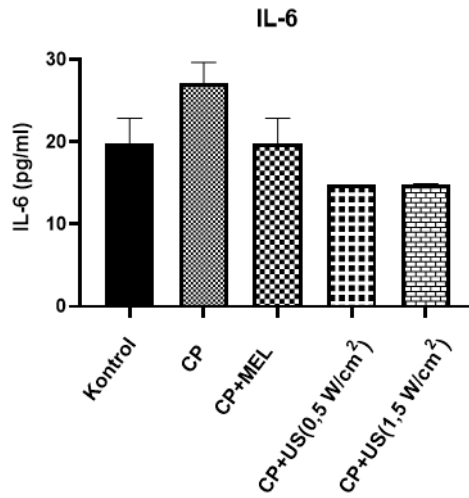
4.5. Nöroinflamasyon İşaretçilerinin İncelenmesi

Uygulanan tedaviler sonrasında siyatik sinir doku örneklerinden IL-1 β ve IL-6 seviyeleri incelenmiştir (Şekil 24-25). Deneklerin serum örneklerine ait IL-1 β seviyeleri incelendiğinde kimyasal nöropati uygulanan grubun tedavi uygulanan gruplardan daha yüksek seviyede olduğu görüldü (Şekil 23). Sisplatin grubu kontrol grubuna göre yüksek seviyede görünse de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ultrases ile tedavi edilen gruplar incelendiğinde kontrol ve sisplatin grubundan oldukça düşük seviyede olduğu görüldü. Bu sonuç istatistiksel olarak da desteklenmektedir. Ultrases tedavi grupları IL-1 β seviyeleri birbirine çok yakın değerlerde olduğu görüldü. 1 MHz 0,5 W/cm² US grubu diğer ultrases tedavi grubundan farklı olarak melatonin grubuna göre de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir (p<0.05).



Şekil 24. Deney gruplarının serum örneklerine ait IL-1 β konsantrasyonları (n=10, * kontrol grubuna, ‡ sisplatin grubuna, † melatonin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

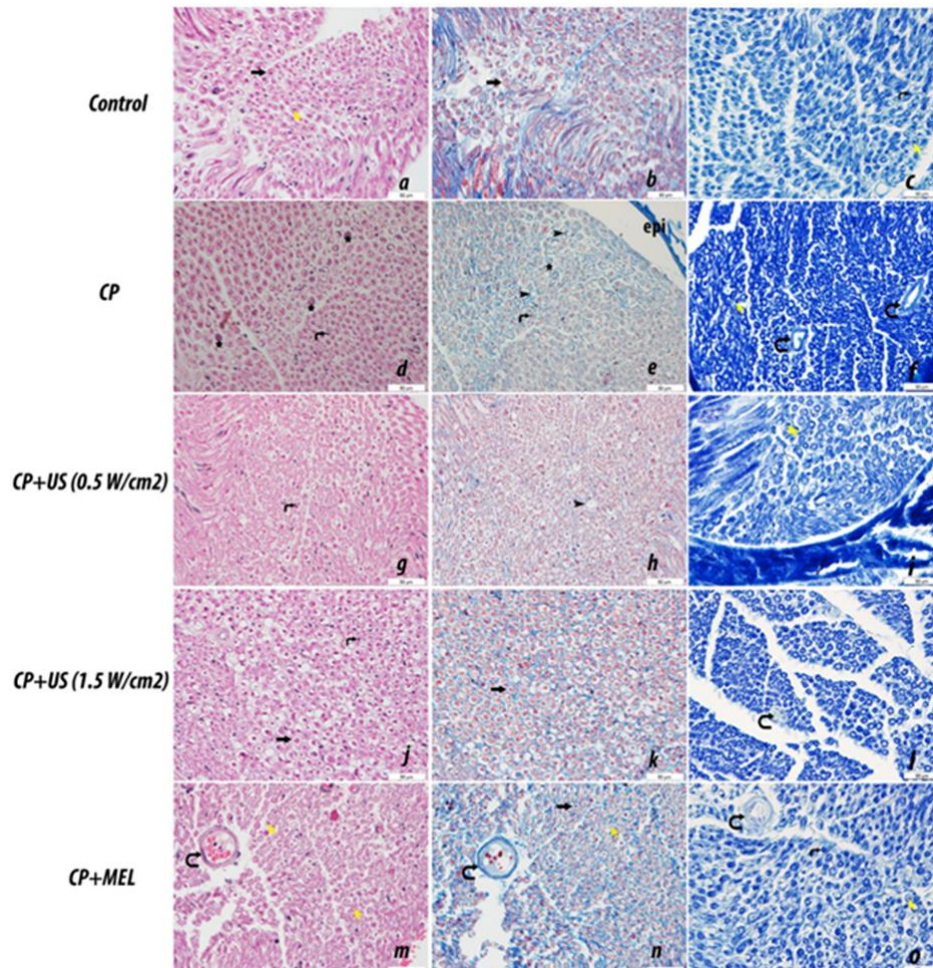
Şekil 24’de deneklere ait serum örneklerinden elde edilen IL-6 seviyelerinin gruplar arasındaki değişimi görülmektedir. Elde edilen verilere göre sisplatin grubunun diğer gruplara göre yüksek seviyede IL-6 içerdiği görüldü. Tedavi grupları incelendiğinde sisplatin grubuna göre düşük düzeyde IL-6 seviyesi içerdiği gözlemlendi. Ultrases tedavi grupları birbirleriyle hemen hemen aynı düzeyde IL-6 seviyesine sahip olduğu görüldü. Grafikte gruplar arasında seviye farklılığı görülmesine rağmen istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık görülmemiştir.



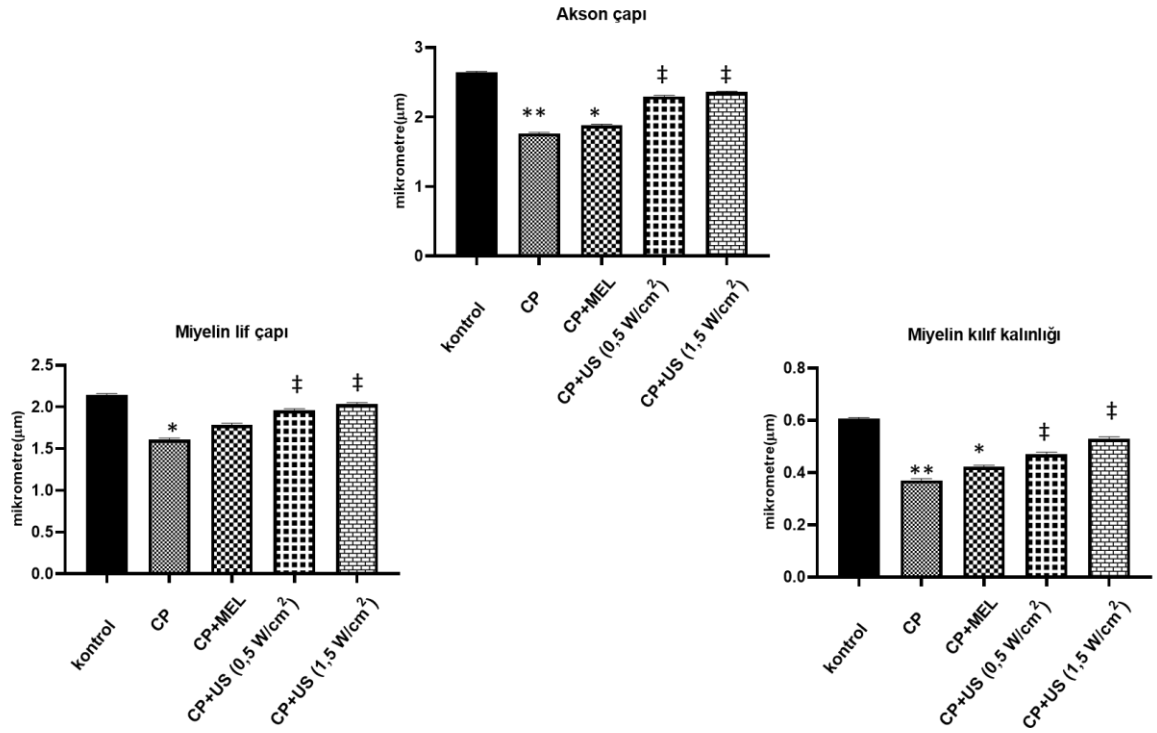
Şekil 25. Deney gruplarının serum örneklerine ait IL-6 konsantrasyonları (n=10).

4.6. Histolojik Analiz Sonuçları

Deneklerden siyatik sinir doku örnekleri alındı. Doku takibi işlemlerinden sonra parafine dik bir şekilde gömülen dokular 5µm boyutunda enine kesitler alınarak hematoksilen eozin, luxol fast blue ve masson trikrom olmak üzere üç farklı boya ile boyanmıştır ve görüntülenmiştir. Luxol fast blue ile boyanmış olan görüntüler Image J programına aktarılarak kesitlerdeki akson çapı, miyelin lif çapı ve miyelin kılıf kalınlığı hesaplanmıştır. Şekil 26’da tüm boyamaların görüntüleri X400 büyütmede verilmiştir. Şekil 27’de boyama sonucu hesaplanan veriler ve istatistiksel sonuçları verilmiştir (Authier ve diğerleri, 2003; Turedi ve diğerleri, 2018).



Şekil 26. Gruplara ait hematoksilen eozin boyaması, X400 büyütme (a, d, g, j, m), Masson'un trikromu boyaması X400 büyütme (b, e, h, k, n), LFB boyaması, X400 büyütme (c, f, i, l, o). Kalın ok; miyelinli sinir lifi. Epi; epinöryum. Ok başı; akson dejenerasyonu. İnce ok; mast hücresi. Sarı ok; akson. Eğik ok; Schwann hücre çekirdeği. Yıldız; sinir lifi dejenerasyonu.



Şekil 27. Deney gruplarına ait akson çapı, miyelin kılıf kalınlığı ve miyelin çapı hesaplamaları (n=10, * kontrol grubuna, ‡ sisplatin grubuna, † melatonin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.) (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde sisplatin grubunda miyelin kılıf kalınlığı, miyelin ve akson çapı, kontrol grubuna göre düşük seviyededir. Uygulanan tedaviler sonrasında hesaplanan parametrelerin arttığı görülmüştür. Melatonin grubunda diğer US tedavi gruplarının aksine miyelin lif çapında istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir. Sisplatin kullanılarak yapılan kemoterapik hasar sonucunda sinir iletim hızında azalma görülmektedir. US tedavisi sonrasında ise miyelinli aksonların artması bize sinir iletim hızının arttığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Kemoterapiye bağılı periferik nöropati, kanser hastalarının yaşam kalitesini önemli düzeyde etkileyen antikanser tedavisinin dolaşım düzenleyici bir yan etkisidir (Peltier ve Russell, 2002; Gilardini ve diğerleri, 2012). Genellikle tedavinin azaltılması veya bazı durumlarda kesilmesinin temel nedeni olduğundan hayat kurtarıcı ajanların işlevlerini sınırlayabilir (Park ve diğerleri, 2008; Jaggi ve Singh, 2012; Carozzi ve diğerleri, 2015). Periferik nöropati semptomları öncelikle duyusaldır. Yanma ağrısı, karıncalanma, soğuğa veya dokunmaya karşı aşırı duyarlılık, titreşim algısının azalması ve iğne batması gibi fonksiyon kayıpları meydana gelmektedir (Park ve diğerleri, 2011; Fehrenbacher, 2015). Kemoterapötiklerin neden olduğu nöropatinin, değişen derecelerde aksonopati ile indüklendiği düşünülmektedir. Bu nedenle ‘çorap-eldiven’ dağılımında semptomlar gelişir, bu da elleri ve ayakları inerve eden aksonlar gibi uzun lifli duyu nöronlarının nörotoksik harekete özellikle duyarlı olduğunu gösterir (Cavaletti ve diğerleri, 1992; Rowinsky ve diğerleri, 1993; Theiss ve Meller, 2000). Kemoterapi alan hastalarda doz yoğunluğu, kümülatif doz, diğer nörotoksik ajanlarla eş zamanlı tedavi, diyabetik ve/veya alkole bağılı periferik nöropati gibi önceden var olan durumlar dahil olmak üzere nöropati gelişimine neden olabilecek pek çok faktör vardır (Postma ve diğerleri, 1995; Lee ve Swain, 2006; Fehrenbacher, 2015).

Kemoterapötik bir ajan olan sisplatin yumurtalık, testis, baş-boyun, akciğer, mesane, serviks, özofagus kanseri gibi solid tümörlerin tedavisinde en sık kullanılan antineoplastik ilaçlardan biridir (Frezza ve diğerleri, 2010; Abdelsameea ve Kabil, 2018; Conte ve diğerleri, 2020). Sisplatin kanser tedavisi için önemli bir ilaç olarak görülmesine rağmen kullanımı, kanser hücrelerindeki yararlı etkilerine karşı direncin indüklenmesi, bulantı, kusma, nörotoksisite, ototoksisite, periferik nöropati ve böbrek hasarı gibi yan etkilerin ortaya çıkmasından dolayı kullanımı kısıtlıdır (Barabas ve diğerleri, 2008; Alam ve diğerleri, 2017; Shahid ve diğerleri, 2019). İlacın sitotoksik etkisi, mitozu engelleyen ve böylece tümör büyümesini baskılayan DNA çapraz bağlantısına bağlanır. Bununla birlikte, sisplatin ayrıca duyu nöronları gibi diğer hücre türlerine de zarar verir (Vencappa ve diğerleri, 2015; Abdelsameea ve Kabil, 2018). Sisplatin tarafından indüklenen periferik nöropati, oksidatif stres, inflamatuvar sitokin salınımı ve mitokondriyel disfonksiyona neden olur (Englander 2013; Mendonca ve diğerleri, 2013). İlaç, sfingomiyelinaz enzimini indükleyerek membran fosfolipidlerini proapoptotik sinyallere daha duyarlı hale getirir (Xiao ve diğerleri, 2012).

Sisplatin apoptoz indüksiyonu ile mitokondriyel reaktif oksijen türü oluşumunu artırır. Üretilen oksidatif stres demiyelinizasyon, mikrotübüler bozulma ve mitokondriyal disfonksiyon yoluyla nöronal hasar üretir (Areti ve diğerleri, 2014). Ayrıca sisplatin, dorsal kök ganglion nöronları üzerinde güçlü bir trofik etkisi olan sinir büyüme faktörünün dolaşımdaki seviyesini azaltır (Cavaletti ve diğerleri, 2002).

Ultrases tıpta tanı ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Düşük frekanslı ultrases frekans aralığı 20-100 kHz iken tanısal ultrasesin frekans aralığı 3-10 MHz şeklindedir. Yumuşak dokuları görüntüleyebilmesi ve iyonlaştırıcı etkisi olmaması nedeniyle tanısal amaçlı kullanım için oldukça elverişli bir yöntemdir. Ultrases klinikte tek başına kullanılabildiği gibi çeşitli kontrast maddelerle birlikte tanısal amaçlı olarak da kullanılabilmektedir (Miller, 2007). Klinikte, cerrahide, diş hekimliğinde, fizyoterapi uygulamalarında, katarakt tedavisinde, tümör hücrelerinin yok edilmesi şeklinde kullanım alanları mevcuttur. Ultrasesin hücre proliferasyonu ve diferasyonunu uyarmak amacıyla doku tamir işlemlerinde tedavi edici etkisi vardır (Tsuang ve diğerleri, 2010). Düşük şiddetli darbeleri ultrases, klinikte psödoartrozu tedavisi, kemik kırıkları ve yumuşak doku iyileşmesi gibi tedavilerde kullanılmaktadır. Düşük şiddetli darbeleri ultrases uygulaması ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle sinir rejenerasyonu üzerine olan etkilerine yoğunlaşmıştır. Bu uygulamanın periferik sinir hasar hayvan modellerinde sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı, insan ve hayvan Schwann hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı ve nörol soya ait çeşitli gen ve protein ekspresyonlarını arttırdığı rapor edilmektedir (Tsuang ve diğerleri, 2010; Oliveira ve diğerleri, 2012; Wood ve Sehgal, 2015). Sinir rejenerasyonu ve fonksiyon artımı amacıyla uygulanan tedavisiyle alınan yanıtların ultrasesin güç yoğunluğuna, frekansa, uygulama süresine bağlı olarak farklılık gösterdiği görülmektedir (Oliveira ve diğerleri, 2012). Jiang ve diğerleri, (2016) düşük seviyeli darbeleri ultrases ile yaptığı bir çalışmada 1 MHz frekans ve 250, 500 ve 750 mW/cm² olmak üzere üç farklı güç yoğunluğunun nöropatik ağrı üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada periferik nöropatik sıçan modelinde siyatik sinire hasar verilerek potansiyel bir tedavi olarak 1 MHz frekansta, 0,4 W/cm² güç yoğunluğunda ultrases tedavisinin etkisi incelenmiş ve nöropatik ağrıyı azaltmada etkili olduğu belirtilmiştir (Micheli ve diğerleri, 2017). Hsieh ve diğerleri (2017) bir akustik enerji şekli olan terapatik ultrases tedavisinin sinir fonksiyonunu artırarak rejenerasyonu desteklediği ve dolayısıyla nöropatik ağrıyı azaltması yönündeki etkilerini incelemiştir. Isıl etki sayesinde akustik dalgaların dokuya girerek moleküler titreşim ürettiği ve buradaki ısı üretimini sonucunda nöropatik ağrının azaldığını gözlemlemişlerdir. Bertolini ve diğerleri (2017), farklı güç yoğunluğunda ultrases kullanarak siyatik sinirdeki hasarı tedavi

etmeyi amaçlamıştır. Literatürde ultrases uygulamasının sinir rejenerasyonuna, nöropatik ağrı ve sinir hasarına etkisini inceleyen çalışmalar bulunmasına karşın nöropati tedavisine yönelik kullanımı ile ilgili literatürde bulunan tek çalışmada düşük frekanslı düşük yoğunluklu ultrasesin hastalarda dirsek bölgesinde oluşan ulnar nöropati tedavisinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Ozkan ve diğerleri, 2015). Fakat literatürde ultrasesin kemoterapi nedenli oluşan kimyasal nöropatideki tedavi etkinliği henüz incelenmemiştir.

Bu çalışmada, sisplatin ile indüklenen periferik nöropatide düşük frekanslı düşük yoğunluklu darbeli ultrases uygulamasının nöropatideki tedavi etkinliği araştırılmıştır. Kemoterapötik bir ajan olan sisplatin uygulamasıyla meydana gelen kimyasal nöropatiyi önlemeye veya tedavi etmeye yönelik non-invaziv yöntemlerin uygulanmasının hastanın daha az komplikasyonla mücadele etmesine ve hasta üzerinde oluşan psikolojik sorunların önlenerek kemoterapi etkinliği üzerinde olumlu etki göstermesi amaçlanmıştır. Sisplatin ile oluşturulan periferik nöropati modelinin tedavisinde ultrases kullanılması ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır.

Sisplatin doz ve uygulama süreleri için literatürdeki veriler incelenmiş, sıçanlarda sisplatin uygulamaları değerlendirilmiştir. Han ve diğerleri (2014), sisplatin ile indüklenmiş kimyasal nöropati modelinde iki ayrı grup sıçanlara 4 ve 5 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere 3 mg/kg sisplatin enjeksiyonu uygulamışlardır. Authier ve diğerleri (2003), sıçanlar ile yapmış olduğu çalışmada beş hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere tek doz 3 mg/kg sisplatin enjeksiyonu uygulamışlardır. Ahmad ve diğerleri (2017), sisplatin ile indükleyerek meydana gelen kimyasal nöropati modelinde hafta da bir kez olmak üzere beş hafta boyunca tek doz 3 mg/kg sisplatin enjeksiyonu yapmışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise 2 mg/kg sisplatin enjeksiyonu haftada iki kez olmak üzere toplam beş hafta boyunca uygulanmıştır (Agthong ve diğerleri, 2015). Bunlar dışında sıçanlarda sisplatin ile indüklenen kimyasal nöropati modelinde farklı doz uygulamaları yapılan çalışmalarda mevcuttur (Seto ve diğerleri, 2016; Leo ve diğerleri, 2017; Jindatip ve diğerleri, 2019). Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan sisplatin dozu belirlenirken Han ve diğerleri (2014), Ahmad ve diğerleri (2017) ve Authier ve diğerleri (2003)'nın beş hafta boyunca sıçanlara uyguladıkları dozlar esas alınmıştır.

Sisplatin kaynaklı kimyasal nöropati modelinin nosiseptif test sonuçlarına göre kademeli olarak geliştiği gözlenmiştir. Sisplatin verilen grupların özellikle son haftada termal uyarıya oldukça geç yanıt vermesi sinir ileti hızında bir düşüş yaşandığını göstermektedir. Çalışmamız sonunda sinir ileti hızı, distal latans, amplitüt distal, alan/area ve BKAP süresi incelenmiştir. Sinir ileti hızı ölçüm sonuçlarına göre kimyasal nöropati uygulanan grubun iletim hızının diğer

gruplara göre oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir (35 m/s, $p<0.001$). Tedavi gruplarının sinir ileti hızı ölçümleri sisplatin grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (55 m/s, $p<0.01$). Yapılan bir çalışmada beş hafta sonunda sıçanlara uygulanan sinir ileti hızı ölçüm sonuçlarında sisplatin grubunun ileti hızının kontrol grubuna göre oldukça düşük seviyede olduğunu incelemişlerdir (Jindatip ve diğerleri, 2019). Wongtawatchai ve diğerleri (2012), beş hafta boyunca sisplatin ile oluşturdukları kimyasal nöropati modelinde sinir ileti hızı ölçümü yapmışlardır. Ölçüm sonuçlarında sisplatin grubunun kontrol grubuna göre düşük ileti hızı gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Diyabetik nöropati oluşturulan sıçanlarda nöropati modeli tamamlandıktan sonra ultrases tedavisi uygulamış ve sinir ileti hızını incelemişlerdir. Sinir ileti hızı ölçüm sonuçları diyabetik nöropatik sıçanlarda düşük seviyede seyrederken (38 m/s), ultrases tedavi grubunda ileti hızının arttığını (48 m/s) gözlemlemişlerdir (Tan ve diğerleri, 2020). Aynı çalışmada incelenen hot plate sonuçlarına göre diyabetik nöropati grubunun termal uyarıya yanıt verme süresinin ultrases tedavi grubuna göre daha uzun olduğunu incelemişlerdir (Tan ve diğerleri, 2020). Diyabetik nöropati sıçan modelinde; hot plate, tail flick testleri ile termal yanıt süreleri incelenen çalışmada nöropati grubunda ağırlı uyarıya geç yanıt verildiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada yapılan sinir iletim hızı ölçüm sonuçlarında diyabetik nöropati grubunun iletim hızının düşük olduğu görülmüş olup nosiseptif testleri destekler nitelikte olduğu bildirilmiştir (Erten, 2018). İncelenen çalışmalar ışığında bizim çalışmamızı karşılaştırdığımızda nosiseptif testler ve sinir iletim hızı uyum içerisinde. Önceki çalışmalarda sisplatin uygulaması sonucu meydana gelen periferik nöropatide sinir iletim hızının kontrol ve tedavi gruplarına göre düşük çıkması demiyelinizasyonun göstergesi olarak kabul edilmiştir (Carozzi ve diğerleri, 2010; Boehmerle ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda sisplatin grubunda görülen sinir ileti hızındaki azalma motor sinir fonksiyonunun azaldığını göstermektedir. Tail flick ve hot plate testlerin sonuçları sisplatin grubundaki sıçanlarda termal uyarıya geç yanıt vermeleri nosiseptif ağrı algısında azalma olduğunu göstermektedir. Düşük yoğunluklu düşük frekanslı darbeli ultrases uygulayarak tedavi ettiğimiz gruplarda sinir ileti hızlarının yüksek olması motor sinir fonksiyonunun iyileştiğinin, termal uyarıya daha erken yanıt vermeleri nosiseptif ağrı algısında artma olduğunu ve demiyelinizasyonda azalma olduğunu göstergesi olarak kabul edilebilir (Boehmerle ve diğerleri, 2014; Huang ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda amplitüt ölçümleri incelendiğinde sisplatin uygulanan grupta düşük seviyede amplitüt gözlenirken tedavi gruplarında amplitüt değerlerinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavi grubunda amplitüt değerinin diğer tedavi gruplarına ve sisplatin grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Birleşik kas aksiyon potansiyeli yanıt süresinin sisplatin grubunda

oldukça yüksek olduğu görülürken tedavi gruplarında özellikle ultrases tedavi gruplarında anlamlı düzeyde azalma görülmüştür ($p<0.05$). Distal latans verileri incelendiğinde sisplatin grubunun latans süresinin tedavi gruplarından daha uzun olduğu görülse de gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p=0.65$). Alan/area verileri değerlendirildiğinde sisplatin grubunun kontrol gruna göre daha düşük seviyede olduğu, tedavi gruplarının ise sisplatin grubuna göre düşük seviyede olduğu görülmüş, ancak gruplar arasında anlamlı bir farklılık ortaya çıkmamıştır ($p=0.58$). Ratlarda siyatik sinir hasarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hasarlı gubun amplütüd değeri, sinir iletim hızı ve akson sayısı kontrol grubuna göre oldukça düşük seviyede olduğunu incelemişlerdir (Kızılay ve diğerleri, 2018). Pollari ve diğerleri (2018)'nin yapmış olduğu çalışmada nöropatik sıçanlarda amplitüt değerinin düşük seviyede olduğunu yani sinir hasarı oluşumu sonucunda nöropatik gruplarda amplitüt düşmesinin meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada periferik sinir hasarı oluşturulan sıçanlarda amplitüt ve distal latans değerleri incelenmiştir (Büyükakıllı ve diğerleri, 2011). Sinir hasarı oluşturulan grupta amplitüt değeri kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğunu gözlemlemişlerdir. Distal latans değerlerinde ise gruplar arasında anlamlı bir değişiklik çıkmamıştır. Sinir hasarı modelinde aksonal disfonksiyon oluşması nedeniyle amplitüt düşmesinin meydana geldiğini bildirmişlerdir (Büyükakıllı ve diğerleri, 2011). Büyükakıllı ve diğerleri (2007)'nin yapmış olduğu başka bir çalışmada periferik sinir hasarında distal latans ve alan/area seviyelerini incelemişlerdir. Sinir hasarı oluşturdukları sıçanlarda ve tedavi grupları arasında alan ve distal latanslarda anlamlı farklılıklar göstermediklerini bildirmiştir. Bu anlamda yapılan çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Elde ettiğimiz sonuçlar terapötik ultrases ışınlamasının periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırabileceğini göstermiştir (Mourad ve diğerleri, 2001).

Antineoplastik ajanların kanser hücrelerinde apoptozu indüklemek için reaktif oksijen türleri (ROS) ürettikleri bilinen bir gerçektir (Conklin, 2004). Periferik sinir sisteminin belirli yapısal ve fonksiyonel özellikleri, onu kemoterapötiklerin ve bazı nörotoksinlerin birikmesine karşı daha duyarlı hale getirir. Etkili bir vasküler bariyerin olmaması ve lenf drenajının olmaması, periferik sinir sisteminin toksik kimyasal saldırılara karşı güçsüz hale getirir. Bunun yanında, yüksek fosfolipid içeriği, mitokondriden zengin aksoplazma ve ayrıca zayıf hücresel antioksidan savunmalarından dolayı oksidatif strese daha duyarlı olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda kanser önleyici ilaçların neden olduğu yapısal ve fonksiyonel bozukluğun mitokondriyal serbest radikal üretimini artırdığı da gözlemlenmiştir. Bu bağlamda üretilen oksidatif stres, nöronlarda demiyelinizasyon, mitokondriyal disfonksiyon, mikrotübüler hasar

ve apoptoz ile fiziksel hasara neden olur (Low ve diğ erleri, 1997; Argyriou ve diğ erleri, 2012; Xiao ve diğ erleri, 2012).

Çalışmamız sonunda deneklerden aldığımız doku ve kan örneklerinden biyokimyasal analizler yapılmıştır. Bu analizler sonucunda MDA seviyesi sisplatin ile ind uklenen kimyasal nöropati grubunda anlamlı derecede yüksek ($p<0.01$) seviyede iken tedavi gruplarında bu seviye sisplatin grubuna göre anlamlı ölçüde düşüktür ($p<0.05$). Özellikle 1 MHz 1,5 W/cm² US tedavi grubunda diğ er tedavi gruplarına göre MDA daha düşük seviyededir. MDA miktarı artan peroksidasyonun ürünü olarak siyatik sinir dokusunda yükselmekte ve bu durum artmış oksidatif stresi işaret etmektedir. Gruplar arası SOD seviyesi incelendiğ inde tedavi gruplarında bu seviye yüksek iken sisplatin grubunda anlamlı derecede düşük seviyededir ($p<0.001$). SOD seviyesinin tedavi gruplarında artması ve sisplatin grubunda azalması azalmış oksidatif stresi işaret etmektedir. Merkezi sinir sistemi yüksek oksijen tüketimi, bol lipid i eriğ i ve diğ er dokulara kıyasla antioksidan enzimlerin azlığı nedeniyle özellikle serbest radikal hasarına karşı hassastır (Skaper ve diğ erleri, 1999). Oksijensiz radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun nöropatik hasar sonrası nöral doku dejenerasyonunda önemli bir faktör olduğu  ne sürülmüştür (Hall ve Braugher, 1982). Melatonin, oksidatif strese karşı güçlü antioksidan etkilere sahiptir (Ustundag ve diğ erleri, 2000; Reiter ve diğ erleri, 2008; Esposito ve Cuzzocrea, 2010). Aynı zamanda önemli immünomodülatör etkiler (Szczezanik, 2007) uygulamakta ve anjiyogenez ve yara iyileşme süreçlerini modüle etmektedir (Soybir ve diğ erleri, 2003). Oksijensiz radikaller, sadece nörol membranların fosfolipidlerine zarar vermez aynı zamanda miyelin proteinlerini reaktif oksijen türlerinin saldırısına daha duyarlı duruma getirdiğ i  ne sürülmektedir (Konat ve Wiggins, 1985). Melatonin, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde oldukça etkilidir (Lee ve diğ erleri, 2002; Okatani ve diğ erleri, 2003). Hem in vivo hem in vitro olarak serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonunu kolayca inhibe edebilme  zelliğ ine sahiptir (Okatani ve diğ erleri, 2003; Kaya ve diğ erleri, 2013). Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin oluşumu, endojen antioksidan sistemin fazla reaktif oksijen türlerini uzaklaştırma yeteneğ ini aştığ ı zaman ortaya çıkar ve sonrasında hücresel hasara neden olur. Melatoninin, lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibe edici etkileri nedeniyle hücre ve organel membranlarının stabilizatörü veya koruyucu olduğu bildirilmiştir (Reiter ve diğ erleri, 2001; Kaya ve diğ erleri, 2013). Çalışmamızda pozitif kontrol grubu olarak incelediğimiz melatonin grubunun elektrofizyolojik ölçüm sonuçlarında hızlı sinir iyileşmesi gözlemlenmiş ve bu sonuçlar oksidatif stres varlığının azalmasıyla desteklenmiştir. Zencirci ve diğ erleri (2010), sıçanlarda oluşturdukları periferik sinir hasarında melatoninin etkisini incelemişlerdir.

Çalışmada yapmış oldukları elektrofizyolojik ölçüm sonuçları, melatonin uygulanan sıçanlarda sinir iletim hızının arttığını göstermiştir. Peng ve diğerleri (2020), sıçanlarda oluşturdukları siyatik sinir hasarında terapötik ultrasonun etkilerini araştırmıştır. Kontrol grubuna kıyasla, sinir iletim hızının düşük yoğunlukta (0.5 W/cm^2) anlamlı şekilde daha erken ve 1 W/cm^2 ultrases tedavisinde ise daha iyi düzelme olduğunu göstermişlerdir. İncelenen bu çalışmada düşük yoğunluklu terapötik ultrasonun sinir yenilenmesini teşvik ettiği, ancak yüksek yoğunluklu ultrasonun sinir yenilenmesini geciktirdiği sonucuna varmışlardır. Yapılan başka bir çalışmada sıçanlarda oluşturulan siyatik sinir hasarı modelinde düşük yoğunluklu düşük frekanslı darbeli ultrases kullanarak tedavi işlemini gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre $1 \text{ MHz } 1.5 \text{ W/cm}^2$ ile tedavi edilen hayvanların, ultrason tedavisi olmayan gruba göre daha hızlı sinir yenilenmesi gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, tedavi grubu ultrason tedavisi olmayan gruba göre daha fazla nörol doku alanı, daha büyük akson çapı ve daha kalın miyelin kılıfları göstermiştir. Elde ettikleri sonuç ise gelişmiş sinir rejenerasyonu üzerine etkin bir tedavi olabileceği yönündedir (Park ve diğerleri, 2010). Çalışmamızda ultrases tedavi gruplarının sinir ileti hızının yüksek çıkması, amplitüt artması, distal latansın uzaması ve azalmış oksidatif stres sinir rejenerasyonun hızlandığının göstergesi olarak kabul edilebilir (Mourad ve diğerleri, 2001).

Uygun kitler kullanılarak ölçülen IL-1 β ve IL-6 seviyeleri incelendiğinde, IL-1 β seviyesinin sisplatin grubunda kontrol grubuna göre yüksek seviyede olduğu, ultrases tedavi gruplarında ise bu seviyede anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür ($p < 0.01$, $p < 0.001$). Özellikle $1 \text{ MHz } 0.5 \text{ W/cm}^2$ US tedavi grubunda diğer tedavi gruplarına göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Gruplar arasında IL-6 seviyeleri incelendiğinde, kimyasal nöropati grubunda bu seviyenin kontrol grubuna göre yüksek olduğu, tedavi gruplarının ise sisplatin grubuna göre daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Ancak, bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlılık sağlamamıştır ($p = 0.67$). Proinflamatuvar sitokin ailesinden olan IL-1 β ve IL-6, inflamatuvar değişikliklerin oluşumunda, hızlı bağışıklık yanıtının meydana gelmesinde görev alırlar. Elde ettiğimiz sonuçlar da IL-1 β seviyesinin sisplatin grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek çıkması sinirde inflamasyon varlığı olduğunu göstermektedir. Uygulamış olduğumuz ultrases tedavisi ile bu seviyenin düşmesi inflamasyonun düştüğünü yani sisplatin ile indüklediğimiz kimyasal nöropatinin iyileştiğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada nöropati oluşturulan sıçanlarda hasar sonrası düşük şiddetli düşük yoğunluklu darbeli ultrason uygulandıktan sonra IL-1 β seviyelerini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuca göre tedavi uygulanan gruplarda bu seviyenin oldukça düşük olduğunu, nöropati grubunda ise proinflamatuvar seviyesinin yüksek

olduğunu bulmuşlardır (Nakamura ve diğerleri, 2011). Başka bir çalışmada ise, sıçanlarda oluşturulan kemoterapi sonrasında IL-1 β ve IL-6 seviyeleri incelenmiştir. Kemoterapi grubunda proinflamatuvar sitokin düzeylerinin önemli ölçüde arttığını ($p<0.01$) gözlemlemişlerdir. Düşük şiddetli darbeli ultrases tedavisinden sonra IL-1 β ve IL-6 seviyelerini tekrar incelemişler ve uygulanan tedavi sonrasında bu seviyelerin anlamlı derecede azaldığı ($p<0.01$) sonucuna ulaşmışlardır (Ling ve diğerleri, 2017). Sisplatin grubundaki inflamasyon varlığı ve oksidatif stres sinir ileti hızının azalmasına neden olduğunu göstermiştir (Taşlı ve diğerleri, 2018). Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile incelemiş olduğumuz referans çalışmalar birbiriyle uyum içerisindedir.

Uygulanan tedavilerin mitofajik ve apoptotik yolaklarda ne şekilde bir etki oluşturduğunu gözlemleyebilmek için western blot analizi ile mitofajik yolak aktivasyonu ve apoptotik yolak aktivasyonu hakkında bilgi veren protein ekspresyon seviyelerindeki değişimler araştırılmıştır. Apoptoz veya proglamlanmış hücre ölümü, hücrenin yaşama süresini düzenleyen ve çeşitli uyaranlara yanıt olarak hasarlı veya istenmeyen hücrelerin kontrollü olarak ortadan kaldırılmasına yardımcı olan ve enerji gerektiren fizyolojik mekanizmadır (Kroemer ve Reed, 2000; Danial ve Korsmeyer 2004). Mitokondri aracılı yolun merkezinde, dış mitokondriyal zarın geçirgenliği ve sonrasında çeşitli proapoptotik ve antiapoptotik faktörlerin sitoplazmaya salınması vardır (Kroemer ve diğerleri, 2007). Bcl-2 proapoptotik ve antiapoptotik protein ailesinin üyeleri, apoptoza karşı mitokondriyal duyarlılığı sıkı bir şekilde düzenler. Tanımlanan ilk ve en önemli apoptotik düzenleyici, t(14,18) translokasyonu nedeniyle foliküler lenfomalarda anormal şekilde eksprese edilen antiapoptotik protein Bcl-2 dir (Bakhshi ve diğerleri, 1985). Bcl-2 protein ailesi, hem çözünür proteinler olarak hem de hücre iskeletine bağlı olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur (Germain ve Shore, 2003). Bununla birlikte, Bcl-2 aile üyelerinin çoğu, dış mitokondriyal membrana yerleştirilir. Bcl-2 proteinlerinin birincil işlevi, mitokondriye çeşitli stres sinyallerinin neden olduğu apoptozu tetikleyen önemli bir olay olan zar geçirgenliğine karşı korumaktır. Normalde sitoplazmada bulunan Bax ve dış mitokondriyal membran ile ilişkili Bak'ın konformasyonundaki değişiklikler, membranda mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin oluşumuna yol açar. Bu gözenekler, kaspaz aktive edici proteinlerin ve sitokrom c gibi diğer hücre ölümü araçlarının salınmasına izin verir. Bcl-2, Bax ve/veya Bak içeren proteinler arasındaki etkileşimi önleyerek mitokondri aracılı apoptotik yolağın indüksiyonunu inhibe eder (Yi ve diğerleri, 2003; Adams ve Cory, 2007; Danial, 2007; Levine ve diğerleri, 2008).

Çalışmamızda gruplar arası apoptoz ile ilgili bilgi veren bcl-2/ β aktin, kaspaz-3/ β aktin ve mitofaji ile ilgili bilgi veren parkin/ β aktin oranları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sisplatin grubunda antiapoptotik bir protein olan bcl-2/ β aktin oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük çıkmıştır ($p<0.05$). Tedavi gruplarında ise bcl-2 seviyesinde artma meydana geldiği görülmüştür. Proapoptotik protein seviyesindeki artış, apoptotik bir aktivasyon olabileceğine işaret eder, ancak genel olarak apoptotik aktivasyon sırasında antiapoptotik protein miktarının da azaldığı gözlemlenmiştir (Faubel ve diğerleri, 2004). Sisplatinin apoptotik etkisi, artan kaspaz-3 ekspresyonunu göstermektedir. Tedavi gruplarında kaspaz-3 ekspresyon seviyesinin azalması ise uygulanan tedavi ile apoptotik etkinin azaldığını göstermektedir. Özellikle 0.5 W/cm² US tedavi grubunun apoptozu baskıladığı görülmüştür. Sonuç olarak uyguladığımız ultrases tedavisi ile siyatik sinir dokusunda iyileşme gözlenmiştir. Uygulanan tedaviler ile apoptozun baskılanması çalışmamızda yapmış olduğumuz tedavilerin etkinliğini göstermektedir. Zhu ve diğerleri (2018), bcl-2'nin diyabetik farelerin siyatik sinirlerinde normal farelere göre azaldığını kaspaz-3 seviyesinin ise arttığını gözlemlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, sıçanlarda sisplatin ile kimyasal nöropati modeli oluşturulmuş ve siyatik sinir dokusunda bcl-2 ekspresyon seviyesi incelenmiştir. Sisplatine bağlı azalmış bcl-2 ekspresyonu, uyguladıkları tedaviler sonrasında önemli ölçüde iyileştiğini gözlemişlerdir. Aynı çalışmada apoptoz yolunun aktivasyonu kaspaz-3 aktivitesi ile belirlenmiştir. Sisplatin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla apoptozu önemli ölçüde etkinleştirdiği, tedavi gruplarında ise sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir (Sharma ve diğerleri, 2017). Sisplatinin, sitozolik Bax'ın mitokondriyal membrana translokasyonuna aracılık ettiği ve sitokrom c'nin sitoplazmaya salınmasına yol açtığı ve bu durum da kaspazları, özellikle apoptoz uygulayıcı kaspaz-3'ün aktive edildiği bildirilmiştir (Park ve diğerleri, 2002; Zhang ve diğerleri, 2012). Gill ve diğerleri (1998), western blot analizi kullanarak sisplatin ile inkübe edilmiş DRG kültürlerinde tedavi edilmemiş gruba kıyasla kaspaz-3 seviyelerinde önemli bir artış olduğunu gözlemlemiştir. Kanser hücresi ile yapılan in vitro bir çalışmada sonodinamik, fotodinamik ve sonofotodinamik tedavisi ile apoptoz tetiklenmesi sonucu gruplar arasındaki bcl-2 seviyesininin arttığı, kaspaz-3 seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir (Aksel ve diğerleri, 2020). Bu çalışmada bulunan sonuçlar literatürde verilen bu bulgularla uyumlu olarak sisplatinin apoptozu tetiklediğini, uygulanan ultrases tedavilerinin ise siyatik sinir dokularındaki apoptoz aktivasyonunda bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

Mitofaji, hasarlı mitokondrinin otofaji yoluyla seçici olarak uzaklaştırılmasıdır. Hücrel homeostaz için sağlıklı mitokondrilerin korunmasında çok önemli bir rol oynar (Kanki ve diğerleri, 2009; Itakura ve diğerleri, 2012). Mitofajiye özgü en iyi sinyal kaskadı olan PINK1/Parkin yolağı, otofaji mekanizmasının görevlendirilmesini başlatabilir ve hasarlı mitokondrinin otofagozomlara yutulmasını kolaylaştırabilir (Nguyen ve diğerleri, 2016; Pickles ve diğerleri, 2018). Mitofaji bozukluğu yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar, inflamasyon ve kanser gibi patolojik durumlarla ilişkilidir (Palikaras ve diğerleri, 2017). Sisplatin sitokrom c salınımı ve kaspaz aktivasyonu yoluyla apoptotik mitokondriyel yol üzerine etkilidir. Literatürde bulunan ve farelerde sisplatin ile indüklenen nefrotoksisitenin gelişiminde mitofajinin aktivasyonu incelenmiş olan bir çalışmada (Wang ve diğerleri, 2018), sisplatin uygulamasını takiben farelerde şiddetli böbrek hasarı gözlenmiş ve böbrek dokusunda parkin seviyesinin arttığı görülmüştür. Bu durum mitofajinin parkin yolağının aktivasyonu olabileceğini düşündürmüştür (Wang ve diğerleri, 2018). Yapılan başka bir çalışmada sıçanlarda diyabetik nöropati modelinde mitokondriyel disfonksiyonu incelemek için parkin seviyesi bakılmıştır (Yamashita ve diğerleri, 2019). Diyabetik grupta parkinin ekspresyon seviyesi düşük iken tedavi grubunda parkin seviyesinin arttığını gözlemlemişlerdir. Streptozotosin (STZ) uygulamasından sonra azalan parkin seviyesini zararlı mekanik, termal ve soğuk uyarılara karşı aşırı duyarlılıkla ilişkilendirmişlerdir (Yamashita ve diğerleri, 2019). Mitokondriyal disfonksiyonların hücrel oksidatif stresi uyardığı yaygın olarak bilinmektedir; bu nedenle sisplatin maruziyeti, platin birikiminin ana bölgesi olan dorsal kök gangliyon (DRG) nöronları dahil olmak üzere hücrelerde oksidatif hasara neden olan ROS oluşturabilir (Pan ve diğerleri, 2009; Marullo ve diğerleri, 2013; Carozzi ve diğerleri, 2015). Jiang ve diğerleri (2008), farklı sisplatin konsantrasyonları kullanarak inkübe edilmiş DRG duyu nöronlarında ROS birikiminin ölçülmesi yoluyla, sisplatin tarafından üretilen DRG’de mitokondriyal ROS oluşum mekanizmasını araştırmıştır. Elde ettikleri veriler sonucunda doza bağlı bir şekilde ROS üretiminde artış olduğunu gözlemişlerdir. Sisplatin kaynaklı periferik nöropati nedenli verimsiz mitofajiye bağlı olarak işlevsiz mitokondri birikimi serbest radikal sızıntısını tamamen artırarak biyomoleküllere ve mitokondrilere oksidatif hasarın kısır döngüsü ilerleme sırasında daha fazla reaktif oksijen türlerinin birikmesine yol açar (Giordano ve diğerleri, 2013; Areti ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda gruplar arasındaki parkin seviyeleri incelendiğinde 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavi grubunda en yüksek seviye olduğu gözlemlendi (p<0.05). Bu sonuç, ultrases tedavisinin, özellikle de 1.5 W/cm² güç yoğunluğunda US tedavisinin, hasarlı mitokondrilerin ortadan kaldırılmasında rol alan mitofajik yolakları aktive etmekte etkin bir yöntem olabileceğini işaret

etmektedir. İleride yapılacak çalışmalarla bu bulgu daha derinlemesine incelenmeli ve ultrasesin mitokondriyel disfonksiyon üzerine olan etkileri de incelenmelidir.

Sinir rejenerasyonunun iyileşmesine neden olmanın yanı sıra, düşük şiddetli (1 MHz, 1 W/cm²) ultrases uygulamasının tip 1 diyabetik hastalarda görülen carpal tunnel sendromunun tedavisinde olumlu etkiler yarattığı bildirilmiştir (Lei ve diğerleri, 2015). Başka bir çalışmada da bilekte görülen ulnar nöropati hastalarında 1 MHz 1.5 W/cm² düşük frekanslı devamlı ultrases uygulamasının olumlu etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Ozkan ve diğerleri, 2015). Ayrıca, düşük yoğunluklu ultrases tedavisinin sinir dokusunu uyardığı ve nöropatik ağrının tedavisi için kullanılabileceği önerilmiştir (Tarun ve diğerleri, 2018). Bunların yanında ultrasesin, sinirde meydana gelen anormalliklerin, demiyelinizan hasar ve immun aracılı nöropatilerin tedavisi için de kullanılabilecek bir yöntem olduğu önerilmektedir (Briani ve diğerleri, 2013). Ultrasesin etki moleküler mekanizması ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda ultrasesin kanser hücrelerinde apoptoz yollarının aktivasyonuna neden olduğuna yönelik bulgular bulunmaktadır (Wang ve diğerleri, 2012). Bunun yanı sıra, ultrasesin mezenkimal kök hücrelerinde otofajiyi düzenleyerek farklılaşmayı artırdığı gözlenmiştir (Wang ve diğerleri, 2019).

Özdemir ve diğerleri (2019), sisplatin uygulayarak oluşturdukları sinir hasarında histolojik incelemeler sonrası, sisplatin grubunun dokusunun genel yapısının bozulduğunu, artan sitoplazmik vakuolizasyon ve dejeneratif hücre ayrılması olduğunu rapor etmişlerdir. Yüce ve diğerleri (2015), ezilme tipi sinir hasarına maruz kalan sıçanların sinir dokularını elektron mikroskobu kullanarak incelemişler ve 1. haftanın sonunda miyelin düzensizliği, miyelinli liflerin kaybı ve miyelin oval ve hücre iskeletinin yokluğunu rapor etmişlerdir. 4. haftanın sonunda, birkaç ince, miyelinli sinir lifi oluşumu rapor edilmiş ve miyelinsiz aksonların varlığı da gözlenmiştir. Ek olarak, dokuların ışık mikroskopik morfolojik incelemesini takiben miyelin kılıf kalınlığında, sinir lifi çapında ve akson çapında azalmalar bildirilmiştir. Çalışmamızda yapılan histolojik analiz sonucunda sisplatin grubunda miyelin kılıf kalınlığı, miyelin ve akson çapı, kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğu görülmüştür. Uygulanan tedaviler sonrasında hesaplanan parametrelerin arttığı görülmüştür. Elde etmiş olduğumuz sonuçlar bu anlamda daha önceki çalışmalar ile uyum içerisindedir. Sisplatin uygulanan grubun miyelin kılıf kalınlığının, akson ve miyelin çapının azalması nöroseptif test sonuçlarında meydana gelen uzamış süre ile ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda oksidatif stres varlığı miyelinli aksonların azalmasına neden olabilmektedir (Pan ve diğerleri, 2009). Ultrases tedavisi sonucu, miyelin kılıf kalınlığı, miyelin ve akson çapının artması sinir iletim hızının

artmasını dolayısıyla aksonal iyileşmeyi, azalan oksidatif stres ve azalan mitokondriyel disfonksiyon ile ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızda 1 MHz 0.5 W/cm² ve 1.5 W/cm² US olmak üzere iki farklı güç yoğunluğunda ultrases tedavisi uyguladık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre 1 MHz 1.5 W/cm² ultrases tedavi grubundaki sıçanlar düşük yoğunluktaki ultrases grubundaki sıçanlara göre daha olumlu sonuçlar vermiştir. Literatürde de benzer sonuçlar mevcuttur. Sıçanlarda düşük yoğunluklu darbeli ultrases uygulayarak kaburga kırığının değerlendirildiği bir çalışmada, 100 mW/cm² ve 200 mW/cm² güç yoğunluğunda uygulanan ultrasesin etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda yüksek güç yoğunluğunda uygulanan ultrasesin daha etkili sonuç verdiğini incelemişlerdir (Çalık ve diğerleri, 2020). Bertolini ve diğerleri (2017), sıçanlarda siyatik sinire hasar vererek 1 MHz 0.4 W/cm² US ve 2 W/cm² US olmak üzere iki farklı güç yoğunluğunda ultrases tedavisi uygulamışlardır. Her iki ultrases tedavi grubunda sinir lif çapı, akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığının arttığını gözlemlemişlerdir. Önemli bir fark olmamakla birlikte 2 W/cm² US tedavi grubunda daha iyi iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavi grubunun iyileşmeye yönelik daha iyi sonuç vermesi önceki çalışmalar ile uyum içerisindedir.

Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda sisplatin ile indüklenen kimyasal nöropati oluşturulmuş sıçanlarda oksidatif stres ve inflamasyon varlığı, aksonal kayıpla birlikte amplitüd uzaması, termal uyarana geç yanıt, motor sinir fonksiyonunda bozukluk, sinir iletim hızında düşüş, miyelin kılıf kalınlığının çapının azalması ve hasarlı mitokondrilerin yok edilmesine yönelik yolak aktivasyonunda azalma tespit edilmiştir. Çalışmada, diyatik sinirde meydana gelen hasarı iyileştirebilmek için alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak ultrases tedavisi önerilmiştir ve etkinliği incelenmiştir. Uygulamış olduğumuz ultrases tedavilerinin, özellikle 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavisinin, sisplatinle indüklenen periferik nöropati etkisi ile ortaya çıkan değişimleri iyileştirmede pozitif kontrol olarak kullandığımız melatonin verilen gruba nazaran daha etkili olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen veriler ışığında, kemoterapi tedavisi gören hastalarda kullanılan kemoterapik ajan sonucu meydana gelen sinir hasarlarının tedavisi için 1 MHz 1.5 W/cm² US uygulanmasının hastaların refaha ulaşmasına katkıda bulunacağı söylenebilir. Fakat, bu çalışmada elde edilen sonuçların işaret ettiği sinir dejenerasyonunda azalma, sinir fonksiyonunda artış, mitofajik yolak aktivasyonu, apoptotik yolak baskılanması gibi ultrases tedavisinin neden olduğu değişimler, ileriki çalışmalarla daha detaylı olarak incelenmeli ve ultrasesin etki mekanizmaları daha detaylı olarak gün ışığına çıkarılmalıdır. Bu çalışmada elde edilen veriler, ultrases tedavisinin kimyasal indüklenmiş

nöropatide non-invaziv, daha az komplikasyona sahip ve kemoterapinin istenmeyen sonuçları üzerinde olumlu etki yapabilecek alternatif bir tedavi yöntemi olduğunu göstermektedir. Ultrases tedavisinin yanı sıra düşük seviye lazer tedavisi de kullanılarak her iki tedavi yönteminin etkinlikleri ileriki çalışmalarla karşılaştırılabilir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, kimyasal nöropati tedavisinde uygulanabilecek ultrases dozu, güç yoğunluğu, uygulama süresi gibi tedavi modalitelerinin belirlenmesinde yol gösterici bir niteliğe sahiptir. Ayrıca, sonuçlar ultrases tedavisinin sinir hücreleri üzerine olan moleküler mekanizmasının açıklanmasına yönelik olarak da literatüre katkıda bulunacaktır. Bu belirtilen hususlar çalışmanın olumlu ve güçlü sonuçlarıdır. Araştırmanın sonuçlarında görüldüğü üzere ultrases tedavisi, kimyasal nöropati tanısı sonrası hastaların şikayetlerini ortadan kaldırmaya yönelik bir tedavi olabilecektir ve sinir hasarı, his kaybı sonucu uzuv amputasyonların önüne geçebilmek adına potansiyel nöroprotektif etki ortaya koyabilecek niteliktedir. Bu açılarından bakıldığında, çalışma sonuçları kanser ile mücadelede atılan önemli adımlara bir yenisinin eklenmesine destek olmakta ve kemoterapiden maksimum düzeyde verim alınmasının önünü açmaktadır. Bu çalışmadaki limitasyon, apoptoz ve mitofaji ile ilgili sadece birer protein ekspresyon seviyesine bakılmasıdır. Apoptoz ve mitofaji ile ilgili kesin sonuçlar elde edebilmek için daha detaylı incelemeler yapılmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kemoterapötik bir ajan olan sisplatinin periferel nöropatide meydana getirdiği sinir hasarında düşük frekanslı düşük yoğunluklu darbeli ultrasesin tedavi edici etkinliği nosiseptif, elektrofiziksel, moleküler, biyokimyasal ve histolojik yöntemler ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1) Gerçekleştirilen nosiseptif incelemeler sonucunda sisplatin uygulanan grubun termal uyarana oldukça geç yanıt verdiği tedavi gruplarının ise anlamlı şekilde hızlı yanıt verdiği görülmüştür.

2) Tedavi sonunda alınan elektrofizyolojik ölçüm sonuçlarından sinir iletim hızının kimyasal nöropati grubunda düşük olduğu gözlemlenirken tedavi gruplarında iletim hızının arttığı gözlemlenmiştir. Özellikle melatonin grubunda kontrol grubuna yakın bir sinir iletim hızı elde edilmiştir. Amplitüd (P-P) distal sonuçlarına göre 1.5 W/cm² US tedavi grubunda en uzun amplitüd görülmüştür. Sisplatin grubunda amplitüd düşmesi meydana gelmiştir. Bu sonuç, aksonal kayıpla, sinir hasarı ile birlikte amplitüd düşmesini göstermektedir. Tedavi gruplarında amplitüd seviyesinin yükselmesi uygulamış olduğumuz tedavinin sinir hasarını iyileştirmeye yönelik etkili bir tedavi yöntemi olduğunu göstermiştir.

3) Serum ve siyatik sinir dokularında oksidatif stres belirteci MDA ve antioksidan savunma sisteminin belirteci SOD düzeyleri, nöroinflamasyon biyomarkerları ise IL-1 β ve IL-6 seviyeleri ile ölçülmüştür. Sisplatin grubunda MDA düzeyi oldukça yüksek seviyede iken SOD düzeyi bu grupta düşük seviyededir. Tedavi gruplarında ise MDA seviyeleri düşük iken SOD seviyeleri yüksektir. Bu durum sisplatin grubunda oksidatif stres varlığını gösterirken aynı zamanda tedavi gruplarında oksidatif stresin azaldığını göstermiştir. Özellikle 1.5 W/cm² US tedavi grubunda oksidatif stres varlığının diğer tedavi gruplarından daha az olduğu bulunmuştur. Biyokimyasal sonuçları destekler nitelikte nöroinflamasyon işaretçileri sisplatin grubunda yüksek olması inflamasyon varlığını göstermektedir. Tedavi gruplarında ise inflamasyonun azaldığı görülmüştür.

4) Kimyasal nöropati grubunda apoptoz varlığı kaspaz-3 ve bcl-2 seviyeleri ile belirlenmiştir. Sisplatin grubunda kaspaz-3 seviyesinin yüksek olması ve bcl-2 seviyesinin düşük olması apoptoz varlığını işaret etmektedir. Tedavi gruplarında ise antiapoptotik bcl-2 seviyesinin yüksek olması ve proapoptotik kaspaz-3 protein seviyesinde azalma gözlenmesinin ultrases tedavisinin apoptozu baskılamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle 1

MHz 1.5 W/cm² US grubunda bcl-2 protein ekspresyon seviyesinin diğer tedavi gruplarına göre yüksek olduğu ve kaspaz 3 protein ekspresyon seviyesinin ise diğer gruplara nazaran düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre apoptozu en iyi baskılayan tedavinin 1 MHz 1.5 W/cm² US olduğu söylenebilir. Bu durum uygulanan ultrasesin, sisplatin ile indüklenen nöropati nedeni gözlenen değişimleri apoptozu baskılayarak tedavi ettiği yönünde yorumlanabilir. Mitofaji ile ilgili bilgi veren parkin seviyesi incelendiğinde ise 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavi grubundaki parkin protein ekspresyon seviyesinin diğer gruplara nazaran kontrol seviyesine en yakın olan sonucu verdiği gözlenmiştir. Bu bulgu, hasarlı olan mitokondrilerin yok edildiği mitofaji yolağının en etkin olarak 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavisi ile aktive edilebileceğine işaret etmektedir.

5) Histolojik analizler sonucunda, sisplatin grubunda akson çapı, miyelin çapı ve kalınlığı, azalma görülmüştür. Ölçülen parametrelerin kontrol grubuna göre azalması bize sisplatin verilen grupta bir dejenerasyon olduğunu göstermektedir. Bu durum aynı zamanda sinir iletim hızında gözlenen azalmayı ve nosiseptif ağrı algısındaki azalmayı meydana getirmiş olabilir. Ultrases tedavisinin, özellikle 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavisinin, miyelin çapı, akson çapı ve miyelin kalınlığı oldukça yüksek bir artışa neden olarak dejenerasyonu iyileştirdiği görülmüştür. Sinir dejenerasyonunda gözlenen bu iyileşme, ultrases tedavisinde gözlenen azalan inflamasyon ve oksidatif stres düzeyi ile artan sinir iletim hızı bulguları ile uyumludur.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler neticesinde; kanser tedavisi sırasında sıklıkla kullanılan sisplatinin, nosiseptif ağrı algısında ve sinir ileti hızında oluşturduğu azalmalar göz önüne alındığında periferik nöropatiye neden olduğu söylenebilir. Sisplatin kaynaklı oluşan kimyasal nöropati sonrası uygulanan 10 mg/kg/gün melatonin, 1 MHz 0.5 W/cm² US ve 1 MHz 1.5 W/cm² US tedavileri ile sinir iletim hızlarının arttığı, amplitüd düzeylerinin uzadığı, termal uyarana karşı daha hızlı tepki verildiğinin görülmesi siyatik sinire verilen hasarın iyileştiğinin göstergesidir. Moleküler analiz sonuçlarına göre tedavi gruplarının apoptozu baskıladığı, biyokimyasal analiz sonuçlarına göre de tedavilerin oksidatif stresi azalttığı ve anti-inflamatuvar etki oluşturduğu görülmüştür.

Elde ettiğimiz bu bulgular ve literatürde bu konuyla ilgili yapılmış olan çalışmalar ışığında, ultrases tedavisinin sisplatin ile indüklenen kimyasal nöropati hasarının tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak düşük yoğunluklu düşük frekanslı darbeleri ultrases tedavisinin klinikte kullanımına geçilmesinden önce in vitro ve in vivo ortamda farklı yoğunlukta ultrases uygulanmasının etkileri incelenmeli, ultrases tedavisinin moleküler etkileri daha detaylı olarak irdelenmelidir. İleriki çalışmalarda elde edilen bu sonuçlar, ultrases tedavisi dışında başka bir tedavi yöntemi (lazer, elektrik stimülasyon, IR, TENS vb.) kullanarak oluşan

etki ile kıyaslanabilir ve farklı tedavilerin etkinliği karşılaştırılabilir. Elektrofizyolojik sinyaller daha ileri nonlinear analizler veya wavelet analizi gibi farklı metotlar kullanılarak incelenebilir. Bunun yanında başka yolların tedavide ne ölçüde etkin olduğunun araştırılması için moleküler etki mekanizmalarının ortaya konulduğu ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Mitokondriyel disfonksiyon ölçümünü desteklemek için mitokondriyel biyogenez, ATP ve ROS seviyelerine bakılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdelsameea, A., Kabil, S.L. (2018). Mitigation of cisplatin-induced peripheral neuropathy by canagliflozin in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 391, 945–952.
- Adams, JM., Cory, S. (2007). Bcl-2-regulated apoptosis: Mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol*, 19:488–496.
- Agthong, S., Kaewsema, A., Charoensub, T. (2015). Curcumin Ameliorates Functional and Structural Abnormalities in Cisplatin-induced Neuropathy. *Exp Neurobiol*. 24(2):139-145.
- Ahmad, N., Subhan, F., Islam, N.U., Shahid, M., Rahman, F.U., Sewell, R.D.E (2017). Gabapentin and its salicylaldehyde derivative alleviate allodynia and hypoalgesia in a cisplatin-induced neuropathic pain model. *European Journal of Pharmacology*, 814, 302–312.
- Akman, T., Akman, L., Erbas, O., Terek, MC., Taskiran, D., Aydin, Ozsaran A. (2015). The preventive effect of oxytocin to cisplatin-induced neurotoxicity: an experimental rat model. *Biomed Res Int* 2015:5
- Akhlaghi, Z., Mobarakeh, JI., Mokhtari, M., Behnam, H., Rahimi, AA., Khajeh, Hosseini MS. (2012) .The effects of altered ultrasound parameters on the recovery of sciatic nerve injury. *Iran Biomed J*. 16 (2):107–112.
- Aksel, M., Girit-Bozkurt, Ö., Bilgin, M.D. (2020). Pheophorbide a-mediated sonodynamic, photodynamic and sonophotodynamic therapies against prostate cancer. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 31- 101909.
- Aksel, M. (2019). *Prostat Kanseri Hücre Dizisinde Fotodinamik ve Sonodinamik Tedavilerin Etkisi*. Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Alam, J., Subhan, F., Ullah, I., Shahid, M., Ali, G., Sewell, RD. (2017). Synthetic and natural antioxidants attenuate cisplatin-induced vomiting. *BMC Pharmacol Toxicol*. 18:4.
- Allan, S.M., Tyrrell, P.J., Rothwell, N.J. (2005). Interleukin-1 and neuronal injury, *Nat. Rev. Immunol*. 5 629–640.
- Apfel, SC., Arezzo, JC., Lewis, ME., Kessler, JA. (1993). The use of insulinlike growth factor

- I in the prevention of vincristine neuropathy in mice. *Ann N Y Acad Sci* 692:243-245.
- Arany, I., Megyesi, JK., Kaneto, H. (2004) Cisplatin-induced cell death is EGFR/src/ERK signaling dependent in Mouse proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 287: F543–9.
- Areti, A., Yerra, V.G., Naidu, V.G.M., Kumar, A. (2014). Oxidative stress and nerve damage: Role in chemotherapy finduced peripheral neuropathy. *Redox Biol*, 2, 289–295.
- Areti, A., Komirishetty, P., Akuthota, M., Malik, R.A., Kumar, A. (2017). Melatonin prevents mitochondrial dysfunction and promotes neuroprotection by inducing autophagy during oxaliplatin-evoked peripheral neuropathy. *J Pineal Res.*;62:e12393.
- Argyriou, A.A., Cavaletti, G., Briani, C., Velasco, R., Bruna, J., Campagnolo, M., Alberti, P., Bergamo, F., Cortinovis, D., Cazzaniga, M. (2013). Clinical pattern and associations of oxaliplatin acute neurotoxicity: A prospective study in 170 patients with colorectal cancer. *Cancer*, 119, 438–444.
- Argyriou, A.A., Bruna, J., Marmiroli, P., Cavaletti, G. (2012). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): anupdate, *Crit. Rev. Oncol. / Hematol.* 82 51–77.
- Aron, L., Botella, M., Lubart, T. (2019). Culinary arts: Talent and their development. In R.F. Subotnik, P. Olszewski-Kubilius, F.C. Worrell (Eds.), *The psychology of high performance: Developing human potential into domain-specific talent* (pp. 345-359). American Psychological Association.
- Auer-Grumbach M. (2004). Hereditary sensory neuropathies. *Drugs Today (Barc)*, 40:385–94.
- Authier, N., Gillet, JP., Fialip, J., Eschalier, A., Coudore, F. (2003). An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Exp Neurol*, 182:12 20.
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review, *Food Res. Int*, vol. 48, no. 2, 410–427.
- Azze, RJ., Mattar, Jr. R. (2000). Lesões dos Nervos Periféricos. In: Pardini Jr. AG, editor. *Traumatismos da mão, third ed.*, Rio de Janeiro, Medsi, 2000.
- Baker, KG., Robertson, VJ., Duck, FA. (2001). A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther*, 81:1351-8

- Bakhshi, A., Jensen, J.P., Goldman, P., Wright, J.J., McBride, O.W., Epstein, A.L., Korsmeyer, S.J. (1985). Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: *Clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18*. *Cell*, 41:899–906
- Banach, M., Juranek, J.K., Zygulska, A.L. (2016). Chemotherapy-induced neuropathies a growing problem for patients and health care providers. *Brain Behav.* 7, e00558.
- Barabas, K., Milner, R., Lurie, D., Adin, C. (2008). Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *Vet Comp Oncol.* 6:1–18.
- Barnett, S.B. (2001). Intracranial temperature elevation from diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med Biol*; 27:883– 8
- Baslo, B.M. Sinir İleti İncelemeleri ve Elektromiyografi 2009, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Ders Notları
- Basu, A., Krady, J.K., Levison, S.W. (2004). Interleukin-1: a master regulator of neuroinflammation, *J. Neurosci. Res.* 78 151–156.
- Batandier, C., Leverve, X., Fontaine, E. (2004). Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I. *J Biol Chem.* 279(17):17197–17204.
- Bayram, E.H., Elcioğlu, H.K. (2016). Diyabetik Noropatiye Guncel Tedavi Yaklaşımları. *Marmara Pharmaceutical Journal* 20: 252-262
- Berne, R.M., Levy M.N. Principles of Physiology, 1999; 3: 72-5.
- Bernhardson, B.M., Tishelman, C., Rutqvist, L.E. (2007). Chemosensory changes experienced by patients undergoing cancer chemotherapy: A qualitative interview study. *J. Pain Symptom Manag.*, 34, 403–412.
- Bertolini, G.R.F., Karvat, J., Kakihata, C.M.M., Ribeiro, L.F.C., Brancalhão, R.M.C. (2017). Therapeutic ultrasound after sciatic nerve compression of Wistar rats. *Neurological Research*, vol. 39, NO. 9, 837–844
- Boehmerle, W., Huehnchen, P., Peruzzaro, S., Balkaya, M., Endres, M. (2014). Electrophysiological, behavioral and histological characterization of paclitaxel, cisplatin, vincristine and bortezomib-induced neuropathy in C57Bl/6 mice. *Scientific Reports* 4:6370.
- Bogin, E., Marom, M., Levi, Y. (1994). Changes in serum, liver and kidney of cisplatin treated

- rats, effect of antioxidants. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 32: 43-51.
- Boron, WF., Boulpaep, EL., Cameron, AC., Touyz, RM., Lang, N. (2016). Medical Physiology, 3rd Edition, Elsevier, Philadelphia. Vascular Complications of Cancer Chemotherapy. *Can J Cardiol*, 32, 7, 852-862.
- Boyle, P., Levin, B. Eds (2008). World Cancer Report. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 33, 6-9.
- Bradley, W.G., Daroff, R.B. (2004). Neurology in Clinical Practice. (Fourth Edition), Disorders of peripheral nerves, Chapter, 82, S:2299-2401.
- Brennen, C.E. (1995). Cavitation and Bubble Dynamics. Oxford University Press, New York.
- Brozovic, A., Ambriovic-Ristov, A., Osmak, M. (2010). The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin. *Crit Rev.Toxicol*, 40:347–359.
- Brydoy, M., Oldenburg, J., Klepp, O. (2009). Observational study of prevalence of longterm Raynaud-like phenomena and neurological side effects in testicular cancer survivors. *J Natl Cancer Inst.*;101(24):1682–1695
- Büyükakıllı, B., Atıcı, A., Büyükdereli, Z., Taşdelen, B., Güneş, S., Turhan, A.H. (2011). Protective Effects of Platelet-Activating Factor Antagonist ABT-491 on the Peripheral Nerves in Hypoxic Ischemia-Induced Neonatal Rat Model. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*,31(5):1179-85
- Cameron, MH. (2003). Ultrasound. In: Cameron MH, editor. Physical agents in rehabilitation from research to practice. 2nd ed. St Louis, CN: *Saunders Company*, p. 185-216
- Canta, A., Pozzi, E., Carozzi, V.A. (2015). Mitochondrial Dysfunction in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN). *Toxics*, 3, 198–223.
- Carstensen, EL., Child, SZ., Norton, S., Nyborg, W. (1990). Ultrasonic heating of the skull. *J Acoust Soc Am*; 87:1310 –7
- Carlson, K., Ocean, AJ. (2011). Peripheral neuropathy with microtubule-targeting agents: occurrence and management approach. *Clin Breast Cancer*, 11(2):73–81
- Carozzi, V.A., Canta, A., Chiorazzi, A., Cavaletti, G. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? *Neurosci. Lett*, 596, 90–107.
- Carozzi, V. A., Canta A., Sala, B., Chiorazzi, A., Meregalli, C., Bossi, M., Marmiroli, P.,

- Cavaletti, G. (2010). Neurophysiological and neuropathological characterization of new murine models of chemotherapy-induced chronic peripheral neuropathies. *Exp Neurol*, 226, 301–309.
- Carstensen, EL., Dalecki, D., Gracewski, SM., Christopher, T. (1999). Nonlinear propagation and the output indices. *J Ultrasound Med*; 18:69 – 80.
- Carter, GT., Weiss, MD., Han, JJ., Chance, PF., England, JD. (2008). Charcot-Marie-Tooth disease. *Curr Treat Options Neurol*, 10:94–102.
- Carvalho, Rodrigues MA., Silva Faria, MC., Santos, NA., Gobe, GC., dos Santos, AC. (2013). Carvedilol efficiently protects kidneys without affecting the antitumor efficacy of cisplatin in mice. *Chem Biol Interact*, 206(1):90-9.
- Catterall, WA. (1988). Structure and function of voltage-sensitive ion channels. *Science*; 242: 50-61.
- Cavaletti, G., Pezzoni, G., Pisano, C., Oggioni, N., Sala, F., Zoia, C., Ferrarese, C., Marmioli, PG., Tredici, G. (2002). Cisplatin-induced peripheral neurotoxicity in rats reduces the circulating levels of nerve growth factor. *Neurosci Lett*, 322:103–106
- Cavaletti, G., Tredici, G., Marmioli, P., Petruccioli, MG., Barajon, I., Fabbrica, D. (1992). Morphometric study of the sensory neuron and peripheral nerve changes induced by chronic cisplatin (DDP) administration in rats. *Acta Neuropathol*, 84(4):364–371.
- Cavaletti, G., Alberti, P., Frigeni, B., Piatti, M., Susani, E. (2011). Chemotherapy-induced neuropathy. *Curr. Treat. Options Neurol.*, 13, 180–190.
- Chen, D., Milacic, V., Frezza, M., Dou, Q. (2009). Metal complexes, their cellular targets and potential for cancer therapy. *Curr Pharm Des.*, 777–91.
- Cioroiu, C., Weimer, L.H. (2017). Update on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 17, 47.
- Conklin, K.A. (2004). Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness, *Integr. Cancer Ther.* 3, 294–300.
- Conte, E., Bresciani, E., Rizzi, L., Cappellari, O., Luca, A.D., Torsello, A., Liantonio, A. (2020). Cisplatin-Induced Skeletal Muscle Dysfunction: Mechanisms and Counteracting Therapeutic Strategies. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 1242.
- Conti, G., De Pol, A., Scarpini, E., Vaccina, F., De Riz, M., Baron, P., Tiriticco, M., Scarlato,

- G. (2002). Interleukin-1beta and interferon-gamma induce proliferation and apoptosis in cultured Schwann cells. *J. Neuroimmunol*, 124, 29–35.
- Cormack, DH ed. (2001). Essential, Histology, Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 209-35.
- Cory, S., and Adams, J. M. (2002) The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat. Rev. Cancer* 2, 647–656.
- Crisci, AR., Ferreira, AL. (2002). Low-intensity pulsed ultrasound accelerates the regeneration of the sciatic nerve after neurotomy in rats. *Ultrasound Med Biol*, 28(10):1335–1341.
- Cunha, TM., Verri Jr, WA., Silva, JS., Poole, S., Cunha, FQ., Ferreira, SH. (2005). A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proc Nat Acad Sci USA*, 102:1755–60.
- Czkowska, R.Z., Kepska, M.K., Leppert, W., Wrzosek, A., Mika, J., Wordliczek, J. (2019). Mechanisms of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1451.
- Çalık, G.S., Çalık, M., Kasdoğan, Z.E., Yılmaz, H., Karaca, G., Akkurt, H.E., Esen, H., Avunduk, M.C., Esme, H., Tolu, İ. (2020). The effect of low-intensity pulsed ultrasound on rib fracture: An experimental study. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg.* Jan; 28(1): 181–187.
- Çalış Ü. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ders Notları, 2011.
- Danial, NN., Korsmeyer, SJ. (2004). Cell death: critical control points. *Cell*, 116(2), 205–219
- Danial, NN. (2007). BCL-2 family proteins: Critical checkpoints of apoptotic cell death. *Clin Cancer Res*, 13:7254–7263.
- Dasari, S., Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, 740, 364-378.
- Davis, C.A., Nick, H.S., Agarwal, A. (2001). Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12, 2683–2690.
- Desoize, B., Madoulet, C. (2002). Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Crit Rev.Oncol.Hematol*, 42:317–325.
- Devigili, G., Tugnoli, V., Penza, P. (2008). The diagnostic criteria for small fibre neuropathy:

- from symptoms to neuropathology. *Brain*, 131(Pt 7):1912–1925.
- Di Cesare Mannelli., Zanardelli, L., Failli, M., Ghelardini, C. (2012). Oxaliplatin-induced neuropathy: Oxidative stress as pathological mechanism. Protective effect of silibinin. *J. Pain*, 13, 276–284.
- Diem, R., Hobom, M., Grotzsch, P., Kramer, B., Bahr, M. (2003). Interleukin-1 β protects neurons via the interleukin-1 (IL-1) receptor-mediated Akt pathway and by IL- 1 receptor independent decrease of transmembrane currents in vivo. *Mol. Cell Neurosci.*, 22 487–500.
- Dinarello, CA. (2005). Blocking IL-1 in systemic inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 201(9), 1355-1359.
- Dipiro, J., Tolberto, R., Yee, G., Matzke, G., Wells, B., Posey, L. (2005). Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach, sixth ed.,Chapter 124,p: 2308- 2309, McGraw-Hill Medical Publishing Division, Newyork.
- Dkhil, M., A, Al-Quraishy S., Aref, A., M, Othman M., S, El-Deib K., M, Abdel Moneim A. E. (2013). The potential role of Azadirachta indica treatment on cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in female rats. *Oxidative medicine and cellular longevity* 32-36.
- Doody, C., Porter, H., Duck, FA., Humphrey, VF. (1999). In vitro heating of human fetal vertebra by pulsed diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 25:1289 –94.
- Dougherty, PM., Cata, JP., Cordella, JV., Burton, A., Weng, HR. (2004). Taxol-induced sensory disturbance is characterized by preferential impairment of myelinated fiber function in cancer patients. *Pain.*, 109(1–2):132–142.
- Draper, DO., Prentice, WE. (2005). Therapeutic ultrasound. In: Prentice WE, editor. Therapeutic modalities in rehabilitation. New York, CN: *McGrawHill Publishing*, p. 360-406.
- Dugbartey, G.J., Pepponec, L.J., Graafd, I.A.M. (2016). An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology*, 371, 58–66.
- Dumitru, D., Amato, AA., Zwarts, M. (2002). *Electrodiagnostic Medicine*. (İkinci baskı). (Philadelphia: Hanley & Belfus)., Chapter 21, S:885-899.

- Dzagnidze, A., Katsarava, Z., Makhalova, J., Liedert, B. (2007). Repair capacity for platinum-DNA adducts determines the severity of cisplatin-induced peripheral neuropathy. *J. Neurosci.*, 27, 9451–9457
- Einhorn, L.H. (2002). Curing metastatic testicular cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 4592–4595
- Englander, E.W. (2013). DNA damage response in peripheral nervous system: coping with cancer therapy-induced DNA lesions. *DNA Repair*, 12:685–690
- Erten, N. (2018). *Diyabetik Nöropatide Curcumin Tedavisinin Olası Nöroprotektif Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Esposito, E., Cuzzocrea, S. (2010). Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. *Curr Neuropharmacol*, 8 (3):228–242.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J., Zollner, H. (1991). Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*;11(1): 81–128.
- Evtodienko, YV., Teplova, VV., Sidash, SS., Ichas, F., Mazat, J.P. (1996). Microtubule-active drugs suppress the closure of the permeability transition pore in tumour mitochondria. *FEBS Lett.*, 393(1):86–88.
- Faubel, S., Ljubanovic, D., Reznikov, L., Somerset, H., Dinarello, C. A., & Edelstein, C. L. (2004). Caspase-1-deficient mice are protected against cisplatin-induced apoptosis and acute tubular necrosis. *Kidney international*, 66(6), 2202-2213.
- Fawcett, J.W., Keynes, R.J. (1990). Peripheral nerve regeneration. *Annu Rev Neurosci.*,13:43–60.
- Fehrenbacher, J. C. (2015). Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Volume 131. ISSN 1877-1173.
- Flatters, S.J.L., Dougherty, P.M., Colvin, L.A. (2017). Clinical and preclinical perspectives on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN): A narrative review. *Br. J. Anaesth.*, 119, 737–749.
- Flatters, S.J., Xiao, L.W.H., Bennett, G.J. (2006). Acetyl-L-carnitine prevents and reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *Neurosci.Lett.*, 397, 219–223.
- Florea, A.N., Busselberg, D. (2011). Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of

- activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*, 3, 1351–1371.
- Florea, AM., Büsselberg, D. (2009). Anti-cancer drugs interfere with intracellular calcium signaling. *NeuroToxicology*; 30:803–810.
- Fowlkes JB. (2008). Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine. American Institute of Ultrasound in Medicine consensus report on potential bioeffects of diagnostic ultrasound: executive summary. *J Ultrasound Med.* 27:503–515.
- Fontes-Pereira, A.J., Teixeira, R. C., Oliveira, A. J. B., Pontes, R. W. F., de Barros, R. S. M., Negrao J. N. C. (2013). The effect of lowintensity therapeutic ultrasound in induced fracture of rat tibiae. *Acta. Ortop. Bras*, vol. 21, no. 1, 18–22.
- Forsyth, PA., Balmaceda, C., Peterson, K., Seidman, AD., Brasher, P., DeAngelis, LM. (1997). Prospective study of paclitaxel-induced peripheral neuropathy with quantitative sensory testing. *J Neurooncol.*, 35(1):47–53
- Frezza, M., Hindo, S., Chen, D., Davenport, A., Schmitt, S., Tomco, D., Dou, Q.P. (2010). Novel metals and metal complexes as platform for cancer therapy. *Curr. Pharm. Des.*, 16, 1813–1825.
- Fry, FJ., Ades, HW., Fry, WJ. (1958). Production of reversible changes in the central nervous system by ultrasound. *Science*; 127:83– 4.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Michels, J., Brenner, C., Szabadkai, G., Harel-Bellan, A, vd. (2014). Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis.*, 5(5):e1257.
- Galley, H.F., McCormick, B., Wilson, K.L., Lowes, D.A., Torsney, C. (2017). Melatonin limits paclitaxel-induced mitochondrial dysfunction in vitro and protects against paclitaxel-induced neuropathic pain in the rat. 2017 The Authors. *Journal of Pineal Research Published by John Wiley & Sons Ltd. J. Pineal Res.* 63:e12444
- Ghafourifar, P., Cadenas, E. (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci*, 26, 190–195.
- Germain, M., Shore, GC. (2003). Cellular distribution of Bcl-2 family proteins. *Sci STKE*, (173):10.
- Gilardini, A., Avila, R.L., Oggioni, N., Rodriguez-Menendez, V., Bossi, M., Canta, A. (2012). Myelin structure is unaltered in chemotherapy-induced peripheral neuropathy.

Neurotoxicology, 33, 1–7.

- Gill, J.S., Windebank, A.J. (1998). Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. *J. Clin. Investig.*, 101, 2842–2850.
- Giordano, S., Darley-USmar, V., Zhang, J. (2013). Autophagy as an essential cellular Antioxidant pathway in neurodegenerative disease, *Redox Biol.*, 2.
- Gregg, E.W., Sorlie, P., Paulose-Ram R. (2004). Prevalence of lowerextremity disease in the US adult population ≥ 40 years of age with and without diabetes: 1999-2000 national health and nutrition examination survey. *Diabetes Care*, 27:1591-1597.
- Gregg, R.W., Molepo, J.M., Monpetit, V.J.A., Mikael, N.Z., Redmond, D., Gadia, M., Stewart, D.J. (1992). Cisplatin neurotoxicity—The relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphological evidence of toxicity. *J. Clin. Oncol.*, 10, 795–803.
- Goldman, L. (2007). Cecil Medicine, 23rd ed. Chapter 192. *Principles of cancer therapy*. Michael C. Perry, Saunders, An Imprint of Elsevier.
- Gonzalez, V.M., Fuertes, M.A., Alonso, C., Perez, J.M. (2001). Is Cisplatin-Induced Cell Death Always Produced by Apoptosis? *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics Mol Pharmacol*, 59:657–663.
- Guo, W., Wang, H., Watanabe, M. (2007). Glial-cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. *Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 22, pp. 6006– 6018.
- Gupta, S.C., Hevia, D., Patchva, S., Park, B., Koh, W., Aggarwal, B.B. (2012). Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy. *Antioxid.Redox.Signal*, 16:1295–1322.
- Guyton and Hall. (2017). *Medical Physiology*, 13. bask1. 57-72, 565-580.
- Haar, G. (1988). Biological effects of ultrasound in clinical applications. In: Suslick KS, ed. *Ultrasound: Its Chemical, Physical, and Biological Effects*. New York, NY: VCH Publishers Inc, 305–320.
- Hall, E.D., Braugher, J.M. (1982). Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ -ATPase activity. Dose–response analysis during 1st hour after contusion injury in the cat. *J Neurosurg*, 57(2):247–253.

- Hampton, MB., Orrenius, S. (1997). Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett.*, 414:552–556.
- Han, F.Y., Wyse, B.D., Smith, M.T. (2014). Optimization and pharmacological characterization of a refined cisplatin-induced rat model of peripheral neuropathic pain. *Behavioural Pharmacology*, Vol 25 No 8.
- Hanigan, MH., Devarajan, P. (2003). Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Ther*, 1:47-61.
- Hartmann, JT., Lipp, H-P. (2003). Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother*, 4(6):889–901.
- Hershman, D.L., Lacchetti, C., Dworkin, R.H., Lavoie-Smith, E.M., Bleeker, J., Cavaletti, G., Chauhan, C., Gavin, P., Lavino, A., Lustberg, M.B. (2014). Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J. Clin. Oncol*, 32, 1941–1967.
- Hille, B. (1992). *Ionic Channels of Excitable Membranes*, 2nd ed. Sinauer associates, Inc, Sunderland, Massachusetts, 59-83.
- Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A. (1986). Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 324:73–6.
- Hong, CZ., Liu, HH., Yu J. (1988). Ultrasound thermotherapy effect on the recovery of nerve conduction in experimental compression neuropathy. *Arch Phys Med Rehabil*, 69(6):410–414.
- Howlander, N., Noone, AM., Krapcho, M. (2013). Cancer Statistics Review, 1975- 2010. Bethesda, MD: *National Cancer Institute*, based on the November 2012 SEER data submission. seer.cancer.gov/csr/1975_2010/.
- Höke, A. (2012). Animal Models of Peripheral Neuropathies. *Neurotherapeutics*, 9:262–269
- Hsieh, Y.L., Chen, H.Y., Yang, C.H., Yang, C.C. (2017). Analgesic Effects of Transcutaneous Ultrasound Nerve Stimulation In A Rat Model of Oxaliplatin-Induced Mechanical Hyperalgesia and Cold Allodynia. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 1-10.
- Huang, Y., Hu, B., Zhu, J. (2016). Study on the use of quantitative ultrasound evaluation of

- diabetic neuropathy in the rat sciatic nerve. *Australas Phys Eng Sci Med*, 39, 997–1005.
- Imai, S., Koyanagi, M., Azimi, Z., Nakazato, Y., Matsumoto, M., Ogihara, T., Yonezawa, A., Omura, T., Nakagawa, S., Wakatsuki, S. (2017). Taxanes and platinum derivatives impair Schwann cells via distinct mechanisms. *Sci. Rep*, 7, 5947.
- Iniguez, C., Larrode, P., Mayordomo, JI. (1998). Reversible peripheral neuropathy induced by a single administration of high-dose paclitaxel. *Neurology*, 51(3):868–870.
- Isakoff, SJ., Mayer, EL., He, L., Traina, TA., Carey, LA., Krag, KJ. (2015). TBCRC009: A multicenter phase II clinical trial of platinum monotherapy with biomarker assessment in metastatic triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 33(17):1902–9.
- Itakura, E., Kishi-Itakura, C., Koyama-Honda, I., Mizushima, N. (2012). Structures containing Atg9A and the ULK1 complex independently target depolarized mitochondria at initial stages of Parkin-mediated mitophagy. *J Cell Sci*, 125: 1488–99.
- Jaggi, A.S., Singh, N. (2012). Mechanisms in cancer-chemotherapeutic drugs-induced peripheral neuropathy, *Toxicology*, 291, 1–9.
- Jiang, W., Wang, Y., Tang, J., Peng, J., Wang, Y., Guo, O, Guo, Z., Li, P., Xiao, B., Zhang, J. (2016). Low-intensity pulsed ultrasound treatment improved the rate of autograft peripheral nerve regeneration in rat. *Sci Rep.*, 6: 22773.
- Jiang, X., Savchenko, O., Li, Y., Oi, S, Yang, T., Zhang, W., Chen, J. (2019). A Review of Low-Intensity Pulsed Ultrasound for Therapeutic Applications. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 66, 10, 2704- 2718.
- Jiang, Y., Guo, C., Vasko, M.R., Kelley, M.R. (2008). Implications of apurinic/aprimidinic endonuclease in reactive oxygen signaling response after cisplatin treatment of dorsal root ganglion neurons. *Cancer Res.*, 68, 6425–6434.
- Jindatip, D., Nopparat, W., Kobutree, P., Roumwong, A., Agthong, S. (2019). Pericyte Loss and Detachment in Experimental Cisplatin-Induced Neuropathy. *Int. J. Morphol*, 37(2):509-514.
- Jones, D., Zhao, F., Brell, J., Lewis, M.A., Loprinzi, C.L., Weiss, M., Fisch, M.J. (2015). Neuropathic symptoms, quality of life, and clinician perception of patient care in medical oncology outpatients with colorectal, breast, lung, and prostate cancer. *J. Cancer Surviv*, 9, 1–10.

- Jorter, B.S. (2011). Preparation and Analysis of the Peripheral Nervous System. *Toxicologic Pathology*, 39: 66-72.
- Junqueira, LC., Carneiro, J. (2003). Basic Histology: Text and atlas. *10th ed, New York, LANGE Mc Graw-Hill*.
- Kalliomaki, M., Kieseritzky, JV., Schmidt, R. (2011). Structural and functional differences between neuropathy with and without pain? *Exp Neurol*, 231(2):199–206.
- Kandel, ER., Schwartz, JH., Jessell, TM. (2000). Principles of Neural Science. *4th ed.: McGraw-Hill Companies*, s. 73.
- Kandel, ER., Schwartz, JH., Jessell, TM., Siegelbaum, S., Hudspeth, AJ. (2013). *Principles of neural science, New York, NY London: McGraw-Hill*.
- Kang, H.R., Lee, D., Eom, H.J., Lee, S.R., Lee, K.R., Kang, K.S., Kim, K.H. (2016). Identification and mechanism of action of renoprotective constituents from peat moss *Sphagnum palustre* in cisplatin-induced nephrotoxicity. *J. Funct. Foods*, 20, 358–368.
- Kanki, T., Wang, K., Baba, M. (2009). A genomic screen for yeast mutants defective in selective mitochondria autophagy. *Mol Biol Cell*, 20: 4730–38.
- Kaya, Y., Sarıkcıoğlu, L., Aslan, M., Kencebay, C., Demir, N., Derin, N., Angelov, D.N., Yıldırım, F.B. (2013). Comparison of the beneficial effect of melatonin on recovery after cut and crush sciatic nerve injury: a combined study using functional, electrophysiological, biochemical, and electron microscopic analyses. *Childs Nerv Syst*, 29:389–401.
- Kayaalp, SO. (1998). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 8. Baskı, Cilt 1-2, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd şirketi, Ankara.
- Kemik, Ö., Kemik, A.S., Dülger, A.C., Hasırcı, İ., Daştan, E., Bartın, MK., Purisa, S., Tüzün, S. (2010). Karaciğer Metastazlı Kolon Kanseri Hastalarında İnterlökin-6 Düzeyleri. *Van Tıp Dergisi*, 17 (2): 42-5.
- Kerckhove, N., Collin, A., Condé, S., Chaletix, C., Pezet, D., Balayssac, D. (2017). Long Term Effects, Pathophysiological Mechanisms, and Risk Factors of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathies: A Comprehensive Literature Review. *Front. Pharmacol*, 8, 86.
- Khanna, A., Nelmes, R.T.C., Gougoulas, N., Maffulli, N., Gray, J. (2009). The effects of

- LIPUS on soft-tissue healing: a review of literature *Br. Med. Bull*, vol. 89, 169–182.
- Kızılay, Z., Aktaş, S., Çetin, K.N., İlhan-Bakay, D., Ersoy, G., Erken, A.H. (2018). Effect of Systemic Application of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells on Healing of Peripheral Nerve Injury in an Experimental Sciatic Nerve Injury Model. *Turk Neurosurg* 28(4):654-662.
- Kidd, JF., Pilkington, MF., Schell, MJ. (2002). Paclitaxel affects cytosolic calcium signals by opening the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Chem*, 277(8):6504–6510.
- Kim, E., Barrett, Scott., Boitano, Susan M., Barman, Heddwen L. Brooks. (2010). Excitable Tissue: Nerve. *Ganong's Review of Medical Physiology*. 23rd edition. Lange II, s. 79-92.
- Klaassen, CD. (2001). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10. Baskı, McGraw-Hill Companies Inc. *Medical Publishing Division, USA*.
- Knott, AB., Bossy-Wetzel E. (2008). Impairing the mitochondrial fission and fusion balance: a new mechanism of neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci*, 1147:283–292.
- Kober, K.M., Olshen, A., Conley, Y.P., Schumacher, M., Topp, K., Smoot, B., Mazor, M., Chesney, M., Hammer, M., Paul, S.M. (2018). Expression of mitochondrial dysfunction-related genes and pathways in paclitaxel-induced peripheral neuropathy in breast cancer survivors. *Mol Pain*, 14, 1744806918816462.
- Konat, GW., Wiggins, RC. (1985). Effect of reactive oxygen species on myelin membrane proteins. *J Neurochem*, 45(4):1113–1118.
- Köken, E.C. (2014). *Ehrlich asit tümör hücreleri üzerinde kloraluminyum ftalosiyanın ve dosetakselin sonodinamik etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Krarup-Hansen, A., Helweg-Larsen, S., Schmalbruch, H., Rorth, M., Krarup, C. (2007). Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: Prospective clinical and neurophysiological studies. *Brain*, 130, 1076–1088.
- Kroemer, G., Reed, JC. (2000). Mitochondrial control of cell death. *Nat Med*, 6(5), 513–519
- Kroemer, G., Galluzzi, L., Brenner, C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev*, 87:99–163.
- Kruidering, M., Van de Water, B., de Heer, E. (1997). Cisplatin-induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I to

IV of the respiratory chain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 280, 638–649.

- Landskron, G., De la Fuente M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., Hermoso, M A. (2014). Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. *Journal of Immunology Research*, 149-85.
- Lauria, G., McArthur, JC., Hauer, PE., Griffin, JW., Cornblath, DR. (1998). Neuropathological alterations in diabetic truncal neuropathy: evaluation by skin biopsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 65(5):762–766.
- Lauria, G., Morbin, M., Lombardi, R. (2006). Expression of capsaicin receptor immunoreactivity in human peripheral nervous system and in painful neuropathies. *J Peripher Nerv Syst.*, 11(3):262–271.
- Lebwohl, D., Canetta, R. (1998). Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *Eur J Cancer*, 34: 1522-1534.
- Lee, JJ., Swain, SM. (2006). Peripheral neuropathy induced by microtubule-stabilizing agents. *J Clin Oncol*, 24(10):1633–1642.
- Lee, YM., Chen, HR., Hsiao, G., Sheu, JR., Wang, JJ., Yen, MH. (2002). Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo. *J Pineal Res*, 33(2):72–80.
- Lei, H., Xin, H., Guan, R., Xu, Y., Li, H., Tian, W., Wang, L., Gao, Z., Guo, Y., Lue, T.F., Lin, G., Xin, Z. (2015). Low-intensity Pulsed Ultrasound Improves Erectile Function in Streptozotocin-induced Type I Diabetic Rats. *UROLOGY*, 86: 1241.e11–1241.e18.
- Leo, M., Schmitt, L., Jastrow, H., Thomale, J., Kleinschnitz, C., Hagenacker, T. (2017). Cisplatin alters the function and expression of N-type voltage-gated calcium channels in the absence of morphological damage of sensory neurons. *Molecular Pain*, Volume 13: 1–12.
- Leong, T., Ashokkumar, M., Kentish, S. (2011). The Fundamentals of Power Ultrasound A Review. *Acoustics Australia*, 39 (2), pp.54-63.
- Levine, B., Sinha, S., Kroemer, G. (2008). Bcl-2 family members: Dual regulators of apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 4:600–606.
- Lindholm, D., Heumann, R., Meyer, M., Thoenen, H. (1987). Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature*, 330, 658–659.
- Ling, L., Feng, X., Wei, T., Wang, Y., Zhang, W., He, L. (2017). Effects of low-intensity pulsed

- ultrasound (LIPUS)-pretreated human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation on primary ovarian insufficiency in rats. *Stem Cell Research & Therapy*, 8:283.
- Lipton, RB., Apfel, SC., Dutcher, JP. (1989). Taxol produces a predominantly sensory neuropathy. *Neurology*, 39(3):368–373
- Loehrer, P.J., Gonin, R., Nichols, C.R., Weathers, T., Einhorn, L.H. (1998). Vinblastine plus ifosfamide plus cisplatin as initial salvage therapy in recurrent germ cell tumor. *J. Clin. Oncol*, 16, 2500–2504.
- Low, P.A., Nickander, K.K., Tritschler, H.J. (1997). The roles of oxidative stress and antioxidant treatment in experimental diabetic neuropathy, *Diabetes*, 46 S38–S42.
- Madsen, PW., Gerten, JW. (1961). The effect of ultrasound on conduction velocity of peripheral nerve. *Arch Phys Med Rehab*;42:645–9.
- Maestri, A., De Pasquale Ceratti A., Cundari, S., Zanna, C., Cortesi, E., Crino, L. (2005). A pilot study on the effect of acetyl-L-carnitine in paclitaxel- and cisplatin-induced peripheral neuropathy. *Tumori*, 91, 135–138.
- Maggi, SP., Lowe, JB 3rd., Mackinnon, SE. (2003). Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg*, 30(2), s. 109–26.
- Maggio, M., Guralnik, J. M., Longo, D. L., Ferrucci, L. (2006). Interleukin-6 in aging and chronic disease: A magnificent pathway. *Journals of Gerontology Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 61, 575–584.
- Mason, J.L., Suzuki, K., Chaplin, D.D., Matsushima, G.K. (2001). Interleukin-1 β promotes repair of the CNS. *J. Neurosci*, 21, 7046–7052.
- Marchand, F., Perretti, M., McMahon, SB. (2005). Role of the immune system in chronic pain. *Nat Rev Neurosci*, 6:521–32.
- Martindale, J.L., Holbrook, N.J. (2002). Cellular response to oxidative stress vs signaling for suicide and survival. *J. Cell Physiol*, 192:1–15.
- Marullo, R., Werner, E., Degtyareva, N., Moore, B., Altavilla, G., Ramalingam, S.S., Doetsch, P.W. (2013). Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. *PLoS ONE*, 8, e81162.

- McCord, JM., Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). *J Biol Chem*, 244, 6049-6055.
- Mendell, JR., Kissel, J., Cornblath, DR. (2001). Clues to diagnosis of peripheral neuropathy: history and examination of the patient. In, eds. *Diagnosis and Management of Peripheral Nerve Disorders*. New York: Oxford, 10-29.
- Mendonca, L.M., da Silva MC., Teixeira, CC., de Freitas LA., Bianchi Mde L, Antunes, LM. (2013). Curcumin reduces cisplatin-induced neurotoxicity in NGF-differentiated PC12 cells. *Neurotoxicology*, 34:205–211.
- Mendonca, AC., Barbieri, CH., Mazzer, N. (2003). Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Meth*;129:183–90.
- Menorca, RM., Fussell, TS., Elfar, JC. (2013). Nerve physiology: mechanisms of injury and recovery. *Hand Clin*, 29, 317-330.
- Micheli, L., Mannelli, L. D. C., Lucarini, E., Cialdai, F., Vignali, L., Ghelardini, C., Monici, M. (2017). Photobiomodulation therapy by NIR laser in persistent pain: an analytical study in the rat. *Lasers in medical science*, 32(8), 1835-1846.
- Miller, D. L. (2007). Overview of experimental studies of biological effects of medical ultrasound caused by gas body activation and inertial cavitation. *Progress in biophysics and molecular biology*, 93(1-3), 314-330.
- Miller, D. L., Smith, N. B., Bailey, M. R., Czarnota, G. J., Hynynen, K., Makin, I. R. S. (2012). Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine, Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. *J. Ultrasound Med*, vol. 31, no. 4, 623–634.
- Miller, MW., Ziskin, M. (1989). Biological consequences of hyperthermia. *Ultrasound Med Biol*, 15:707–22.
- Mollman, J.E., Glover, D.J., Hogan, W.M., Furman, R.E. (1988). Cisplatin neuropathy. Risk factors, prognosis, and protection by WR-2721. *Cancer*, 61, 2192–2195.
- Morris, RL., Hollenbeck, PJ. (1995). Axonal transport of mitochondria along microtubules and F-actin in living vertebrate neurons. *J Cell Biol*, 131(5):1315–1326.
- Moser, EC., Noordijk, EM., Carde, P. (2005). Late non-neoplastic events in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma in four randomized European Organisation for

- Research and Treatment of Cancer trials. *Clin Lymphoma Myeloma*, 6(2):122–130.
- Mourad, PD., Lazar, DA., Curra, FP., Mohr, BC., Andrus, KC., Avelino, AM. (2001). Ultrasound accelerates functional recovery after peripheral nerve damage. *Neurosurgery*;48(5):1136–40.
- Mumenthaler, M., Stöhr, M., Müller-Vahl H. (2005). *Nobel Tıp Yayınları, Çeviri. Periferik Sinir Lezyonları ve Radiküler Sendromlar*, 1-95.
- Myers, RR., Yaksh, TL., Lynch, III C., Zapol, WM., Maze, M., Biebuyck, JF., Saidman, LJ (eds). Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. (1998). Philadelphia. Anesthesia: *Biologic Foundations*, s. 480-491.
- Nakamura, T., Fujihara, S., Yamamoto-Nagata, K. (2011). Lowintensity pulsed ultrasound reduces the inflammatory activity of synovitis. *Ann Biomed Eng*, 39:2964-71.
- Namer, B., Pfeffer, S., Handwerker, HO., Schmelz, M., Bickel, A. (2013). Axon reflex flare and quantitative sudomotor axon reflex contribute in the diagnosis of small fiber neuropathy. *Muscle Nerve.*, 47(3):357–363.
- New, PZ., Jackson, CE., Rinaldi, D., Burris, H., Barohn, RJ. (1996). Peripheral neuropathy secondary to docetaxel (Taxotere). *Neurology*, 46(1):108–111.
- Nguyen, TN., Padman, BS., Lazarou, M. (2016). Deciphering the molecular signals of PINK1/Parkin mitophagy. *Trends Cell Biol*, 26: 733–44.
- Ni, XJ., Wang, XD., Zhao, YH., Sun, HL., Hu, YM., Yao, J. (2017). The Effect of Low-Intensity Ultrasound on Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in a Rat Sciatic Nerve Crushed Injury Model. *Ultrasound Med Biol*; 43(2):461–468.
- Nicholson, D. W. (2000) From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature* 407, 810–816
- Nishikawa, M., Nagatomi, H., Chang, B.J., Sato, E., Inoue, M. (2001). Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells inhibits mitochondrial injury and renal dysfunction induced by cisplatin. *Arch. Biochem. Biophys*, 387 (78), 84.
- Nolano, M., Crisci, C., Santoro, L. (2000). Absent innervation of skin and sweat glands in congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Clin Neurophysiol*, 111(9): 1596–1601.
- Nowikovsky, K., Schweyen, RJ., Bernardi, P. (2009). Pathophysiology of mitochondrial volume homeostasis: potassium transport and permeability transition. *Biochim Biophys*

Acta, 1787(5):345–350.

- Nyborg, WL., Carson, PL., Carstensen, EL., Dunn, F., Miller, MW., Miller, DL., Thompson, HE., Ziskin, MC. (2002). Exposure Criteria for Medical Diagnostic Ultrasound: II. Criteria Based on All Known Mechanisms. National Council on Radiation Protection and Measurements; *Bethesda Md*: Report No. 140
- Ogard, WK., Stockert, BW. (1994). Neuropatias Periféricas. In: Umphred DA, editor. *Fisioterapia neurological, second ed, S̃ao Paulo, Manole*.
- Okamoto, K., Martin, D. P., Schmelzer, J. D., Mitsui, Y., Low P. A. (2001). Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in rat sciatic nerve chronic constriction injury model of neuropathic pain, *Experimental Neurology*, vol. 169, no. 2, pp. 386–391.
- Okatani, Y., Wakatsuki, A., Reiter, RJ., Enzan, H., Miyahara, Y. (2003). Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver. *Eur J Pharmacol*, 469(1–3):145–152.
- Oliveira, F.B., Pereira, M.D., Trindade, A.P., Shimano, A.C., Gabriel, R.E.C., Borges, A.P.O. (2012). Action of Therapeutic Laser and Ultrasound in Peripheral Nerve Regeneration. *Acta Ortop Bras*, 20(1):98-103.
- Ovayolu, N., Parlar, S., Karakaş, S. (2003). Kemoterapi uygulamasının toksik ve yan etkilerine yönelik alınabilecek hemşirelik önlemleri. *Hemşirelik Forumu Dergisi*, 6(2):26-41.
- Ozben, T. (2007). Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *J.Pharm.Sci*, 96:2181–2196.
- Özdemir, D., Özgür, A., Kalkan, Y., Terzi, S., Tümkaya, L., Yılmaz, A. (2019). The protective effects of whortleberryextract against cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Braz J Otorhinolaryngol*, 85:55-62.
- Ozkan Unlu, F., Saygı Karadag, E., Senol, S., Kapcı, S., Aydeniz, B., Aktas, I., Gozke, E. (2015). New treatment alternatives in the ulnar neuropathy at the elbow: ultrasound and low-level laser therapy. *Acta Neurol Belg*, 115:355–360.
- Page, R., Matus, RE., Leifer, CE., Loar, A. (1985). Cisplatin, a new antineoplastic drug in veterinary medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 186: 288-90.
- Palikaras, K., Daskalaki, I., Markaki, M., Tavernarakis, N. (2017). Mitophagy and age-related

pathologies: Development of new therapeutics by targeting mitochondrial turnover. *Pharmacol Ther*, 178: 157–74.

- Pan, H., Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Patel, V., Mukhopadhyay, B., Gao, B., Haskó G Pacher, P. (2009). Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and cell death. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 328, 708–714.
- Paolicchi, A., Sotiropoulou, M., Perego, P. (2002). γ -Glutamyl transpeptidase catalyses the extracellular detoxification of cisplatin in a human cell line derived from the proximal convoluted tubule of the kidney. *Eur. J. Cancer*, 39, 996–1003.
- Park, S.B., Krishnan, A.V., Lin, C.S., Goldstein, D., Friedlander, M., Kiernan, M.C. (2008). Mechanisms underlying chemotherapy-induced neurotoxicity and the potential for neuroprotective strategies, *Curr. Med. Chem*, 15 3081–3094.
- Park, SB., Lin, CS., Kiernan, MC. (2012). Nerve excitability assessment in chemotherapy-induced neurotoxicity. *J Vis Exp.*, 62:e3439
- Park, SB., Goldstein, D., Krishnan, A.V., Lin, C.S., Friedlander, M.L., Cassidy, J., Koltzenburg, M., Kiernan, M.C. (2013). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: A critical analysis. *CA Cancer J. Clin.*, 63, 419–437.
- Park, SB., Lin, CS., Krishnan, AV., Friedlander, ML., Lewis, CR., Kiernan, MC. (2011). Early, progressive, and sustained dysfunction of sensory axons underlies paclitaxel-induced neuropathy. *Muscle Nerve*, 43(3):367–374
- Park, SC., Oh, SH., Seo, TB., Namgung, U., Kim, JM. (2010). Ultrasound-stimulated peripheral nerve regeneration within asymmetrically porous PLGA/Pluronic F127 nerve guide conduit. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 94: 359–66.
- Park, MS., De Leon, M., Devarajan, P. (2002). Cisplatin induces apoptosis in LLC-PK1 cells via activation of mitochondrial pathways. *J Am Soc Nephrol*, 13:858–65.
- Pehlivan F. Biyofizik (Biophysics). (2015). 8. *Baskı , Pelikan yayınevi, Ankara.*
- Peltier, AC., Russell, JW. (2002). Recent advances in drug-induced neuropathies. *Curr Opin Neurol*, 15:633–8.
- Peng, D.Y., Maldonado, A.B.R., Lin, G.T., Xia, S.J., Lue, T.F. (2020). Low-intensity pulsed ultrasound for regenerating peripheral nerves: potential for penile nerve. *Asian Journal*

- Perrin, F.E., Lacroix, S., Aviles-Trigueros, M., David, S. (2005). Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1 α and interleukin-1 β in Wallerian degeneration. *Brain*, 128, 854–866.
- Pickles, S., Vigie, P., Youle, R.J. (2018). Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. *Curr Biol*, 28: R170–85
- Pike, C.T., Birnbaum, H.G., Muehlenbein, C.E. (2012). Healthcare costs and workloss burden of patients with chemotherapy-associated peripheral neuropathy in breast, ovarian, head and neck, and nonsmall cell lung cancer. *Chemother Res Pract*, 913-848.
- Podratz, J.L., Knight, A.M., Ta, L.E., Staff, N.P., Gass, J.M., Genelin, K., Schlattau, A., Lathroum, L., Windebank, A.J. (2011). Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiol. Dis.*, 41, 661–668.
- Polydefkis, M., Yiannoutsos, C.T., Cohen, B.A. (2002). Reduced intraepidermal nerve fiber density in HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology*, 58(1):115–119.
- Pollari, E., Prior, R., Robberecht, W., Van, Damme., P, Van Den Bosch., L. (2018). In Vivo Electrophysiological Measurement of Compound Muscle Action Potential from the Forelimbs in Mouse Models of Motor Neuron Degeneration. *J. Vis. Exp.*, (136), e57741.
- Postma, T.J., Vermorken, J.B., Liefting, A.J., Pinedo, H.M., Heimans, J.J. (1995). Paclitaxel-induced neuropathy. *Ann Oncol.*, 6(5):489–494.
- Postma, T.J., Heimans, J.J. (2000). Grading of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Ann Oncol*, 11(5):509–513.
- Prestayko, A.W., D'Aoust J.C., Issell, B.F., Crooke, S.T. (1979). Cisplatin (cisdiamminedichloroplatinum II). *Cancer Treat Rev.*, 6(1):17–39.
- Rabik, C., Dolan, M. (2007). Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*, 33(1):9-23.
- Ramchandren, S., Leonard, M., Mody, R.J. (2009). Peripheral neuropathy in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Peripher Nerv Syst*, 14(3):184–189.
- Raso, V.V.M., Barbieri, C.H., Mazzer, N., Fasan, V.S. (2005). Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *Journal of Neuroscience Methods* 142, 185–192.

- Reed, E., Chabner, B.A., Einhorn, L.H. (2006). Cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin, in: D.L. Longo(Eds.), *Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice*, 4th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, Curing metastatic testicular cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 4592–4595 pp. 332–343.
- Reiter, R.J., Acuna-Castroviejo, D., Tan, D.X., Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*, 939:200–215.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Jou, M.J., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Paredes, S.D. (2008). Biogenic amines in the reduction of oxidative stress: melatonin and its metabolites. *Neuro Endocrinol Lett*, 29(4):391–398.
- Rosenberg, B., Vancamp, L., Krigas, T. (1965). Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, 205, 698–699.
- Ross, M.H., Pawlina, W. (2006). *Histology: A text and atlas*. Baltimore, Philadelphia, 5. ed, Lippincott Williams & Wilkins.
- Roytta, M., Raine, C.S. (1986). Taxol-induced neuropathy chronic effects of local injection. *J Neurocytol*, 15:483-496
- Rowinsky, E.K., Chaudhry, V., Cornblath, D.R., Donehower, R.C. (1993). Neurotoxicity of Taxol. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 15:107–115.
- Russell, J.W., Windebank, A.J., McNiven, M.A., Brat, D.J., Brimijoin, W.S. (1995). Effect of cisplatin and ACTH4-9 on neural transport in cisplatin induced neurotoxicity. *Brain Res.*, 676(2):258–267.
- Saad, A.A., Youssef, M.I., El-Shennawy, L.K. (2009). Cisplatin induced damage in kidney genomic DNA and nephrotoxicity in male rats: the protective effect of grape seed proanthocyanidin extract. *Food Chem Toxicol*, 47:1499–1506.
- Saad, S.Y., Najjar, T.A., Alashari, M. (2004). Role of non-selective adenosine receptor blockade and phosphodiesterase inhibition in cisplatin-induced nephrogonadal toxicity in rats. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, 31:862–867.
- Sahu, B.D., Kalvala, A.K., Koneru, M., Kumar, J.M., Kuncha, M., Rachamalla, S.S. (2014). Ameliorative effect of fisetin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats via modulation of NF- κ B activation and antioxidant defence. *PLoS One.*, 9(9).

- Savchenko, O. (2017). Application of low intensity pulsed ultrasound for microbial cell stimulation in bioprocesses and development of carbonbased silver covered filters for microbial cells removal in water systems. Ph.D. dissertation, Dept. Biomed. Eng., Univ. Alberta, Edmonton, AB, Canada.
- Schaumburg, HH., Berger, A. R., Thomas, P. K. (1983). Disorders of Peripheral Nerves, *2nd ed. F. A. Davis Co., Philadelphia.*
- Scheller, J., Garbers, C., Rose-John, S. (2014). Interleukin-6: from basic biology to selective blockade of pro-inflammatory activities. *Semin Immunol*, 26:2–12.
- Scholz, J., Woolf, CJ. (2007). The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci*, 10:1361–8.
- Seretny, M., Currie, G.L., Sena, E.S., Ramnarine, S., Grant, R., MacLeod, M.R., Colvin, L.A., Fallon, M. (2014). Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain*, 155, 2461–2470.
- Seto, Y., Okazaki, F., Horikawa, K., Zhang, J., Sasaki, H., To, H. (2016). Influence of dosing times on cisplatininduced peripheral neuropathy in rats. *BMC Cancer*, 16:756.
- Shahid, F., Farooqui, Z., Khan, F. (2018). Cisplatin-induced gastrointestinal toxicity: An update on possible mechanisms and on available gastroprotective strategies. *European Journal of Pharmacology*, 827, 49–57.
- Shahid, M., Subhan, F., Ahmad, N., Sewell, R.D. (2019). Efficacy of a topical gabapentin gel in a cisplatin paradigm of chemotherapyinduced peripheral neuropathy. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 20:51.
- Shankar, H., Pagel, P.S. (2011). Potential Adverse Ultrasound-related Biological Effects. The American Society of Anesthesiologists, Inc. Lippincott Williams & Wilkins. *Anesthesiology*, 115:1109–24
- Sharma, S., Sharma, P., Kulurkar, P., Singh, D., Kumar, D., Patial, V. (2017). Iridoid glycosides fraction from *Picrorhiza kurroa* attenuates cyclophosphamide-induced renal toxicity and peripheral neuropathy via PPAR- γ mediated inhibition of inflammation and apoptosis. *Phytomedicine*, 36, 108–117.
- Shen, N., Zhu, J. (1995). Experimental study using a direct current electrical field to promote peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*;11(3):189–93.

- Sherr, C. J., and McCormick, F. (2002). The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2, 103–112.
- Sheikh-Hamad, D., Cacini, W., Buckley, AR., Isaac, J., Truong, LD., Tsao, CC., Kishore, BK. (2004). Cellular and molecular studies on cisplatin-induced apoptotic cell death in rat kidney. *Arch Toxicol*, 78: 147-155.
- Shier, D., Butler, J., Lewis, R. (2006). Hole's Essentials of human anatomy and physiology. 9th ed. New York: McGraw Hill., s. 202-42.
- Shrivastava, A., Kuzontkoski, PM., Groopman, JE., Prasad, A. (2011). Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and autophagy. *Mol.Cancer Ther.*, 10:1161–1172.
- Siddik, ZH. (2003). Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, 22:7265–7279.
- Siemionow, M., Brzezicki, G. (2009). Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol.*, 87:141-72.
- Singleton, J.R., Smith, A.G. (2007). Neuropathy Associated with Prediabetes: What Is New in *Current Diabetes Reports*, 7:420–424.
- Skaper, SD., Floreani, M., Ceccon, M., Facci, L., Giusti, P. (1999). Excitotoxicity, oxidative stress, and the neuroprotective potential of melatonin. *Ann N Y Acad Sci*, 890:107 118.
- Snchez-Gonzlez, PD., López-Hernández, FJ., López-Novoa, JM., Morales, AI. (2011). An integrative view of the pathophysiological events leading to cisplatin nephrotoxicity. *Crit Rev Toxicol.*, 41(10):803–21.
- Snell, RS. (1990). Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Second edition. *Little Brown and Company, Boston*, 47-75.
- Sommer, C., Kress, M. (2004). Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neurosci Lett*, 361:184–7.
- Soybir, G., Topuzlu, C., Odabas, O., Dolay, K., Bilir, A., Koksoy, F. (2003). The effects of melatonin on angiogenesis and wound healing. *Surg Today* 33(12):896–901.
- Starobova, H., Vetter, I. (2017). Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front. Mol. Neurosci.*, 10, 174.

- Stevens, A., Lowe, J.S. (1997). Human Histology, Mosby, London,: 92-4.
- Stillman, M., Cata, JP. (2006). Management of chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Curr Pain Headache Rep*, 10:279–287.
- Storey, D.J., Sakala, M., McLean, C.M., Phillips, H.A., Dawson, L.K., Wall, L.R., Fallon, M.T., Clive, S. (2010). Capecitabine combined with oxaliplatin (CapOx) in clinical practice: How significant is peripheral neuropathy? *Ann. Oncol.* 21, 1657–1661.
- Strasser, A., Harris, A. W., Huang, D. C., Krammer, P. H., and Cory, S. (1995). Bcl-2 and Fas/APO-1 regulate distinct pathways to lymphocyte apoptosis. *EMBO J.* 14, 6136 6147.
- Strumberg, D., Brugge, S., Korn, MW. (2002). Evaluation of long-term toxicity in patients after cisplatin-based chemotherapy for non-seminomatous testicular cancer. *Ann Oncol*, 13(2):229–236.
- Szczepanik, M. (2007). Melatonin and its influence on immune system. *J Physiol Pharmacol*, 58(Suppl 6):115–124.
- Tan, J-S., Lin, C-C., Chen, G-S. (2020). Vasomodulation of peripheral blood flow by focused ultrasound potentiates improvement of diabetic neuropathy. *BMJ Open Diab Res Care*, 8:e001004.
- Tanaka, T., Kishimoto, T. (2014). The biology and medical implications of interleukin- 6. *Cancer Immunol Res.*, 2:288–94.
- Taner, D . (2007). Fonksiyonel Anatomi Ekstremiteler ve Sırt Bölgesi. 11.Baskı, İstanbul, Nobel.
- Tarun, P., Abigail H, Ian W., Teresa, M., Jiang, Q., Clif, B., Paul, N., Miriam, S., Amelia, S., Juliette, T., Julie, G. P. (2018). External focused ultrasound treatment for neuropathic pain induced by common peroneal nerve injury. *Neuroscience Letters*, 684 ,145–151.
- Tassler, P.L., Dellon, A.L., Canoun, C. (1994). Identification of Elastic Fibres in the Peripheral Nerve. *Journal of Hand Surg [Br]*, 19: 48-54.
- Taşlı, N.G., Uçak, T., Karakurt, Y., Çimen, F.K., A.Ö., Bilgin, Kurt N., Süleyman, H. (2018). The effects of rutin on cisplatin induced oxidative retinal and optic nerve injury: an experimental study. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37:3, 252-257.
- Temporin, K., Tanaka, H., Kuroda, Y., Okada, K., Yachi, K., Moritomo, H., Murase, T., Yoshikawa, H. (2008). IL-1 β promotes neurite outgrowth by deactivating RhoA via p38

- MAPK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 365, 375–380.
- Ter Haar, G. (1999). Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound.*, 9:3-9.
- Terzis, JK., Smith, KL. (1990). Repair and Grafting of the Peripheral Nerve: Plastic Surgery. McCarthy JG (ed), *WB Saunders, Philadelphia*, 630- 697.
- The Top Ten Causes of Death 2017. World Health Organization. İnternet Erişim Adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. Erişim Tarihi: 15.09.2018.
- Theiss, C., Meller, K. (2000). Taxol impairs anterograde axonal transport of microinjected horseradish peroxidase in dorsal root ganglia neurons in vitro. *Cell Tissue Res*, 299(2):213–224.
- Thompson, SW., Davis, LE., Kornfeld, M., Hilgers, RD., Standefer, JC. (1984). Cisplatin neuropathy. Clinical, electrophysiologic, morphologic, and toxicologic studies. *Cancer*, 54(7):1269–1275.
- Tofaris, GK., Patterson, PH., Jessen, KR., Mirsky, R. (2002). Denervated Schwann cells attract macrophages by secretion of leukemia inhibitory factor (LIF) and monocyte chemoattractant protein-1 in a process regulated by interleukin-6 and LIF. *J Neurosci*, 22:6696–703.
- Touzani, O., Boutin, H., Chuquet, J., Rothwell, N. (1999). Potential mechanisms of interleukin-1 involvement in cerebral ischaemia. *J. Neuroimmunol*, 100, 203–215.
- Townsend, D.M., Tew, K.D., Lin, H., King, J.B., Hanigan, M.H. (2009). Role of glutathione-S-transferase Pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biomed. Pharmacother*, 63, 79–85.
- Tracy, JA., Dyck, PJ. (2008). The spectrum of diabetic neuropathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 19:1–26.
- Tsang R.Y, T. Al-Fayea, H.-J. Au, Cisplatin overdose. Drug safety, 2009. 32(12): p. 1109-1122.
- Tsuang, Y.H., Liao, L.W., Chao, Y.H., Sun, J.S., Cheng, K., Chen, M.H., Weng, P.W. (2010). Effects of Low Intensity Pulsed Ultrasound on Rat Schwann Cells Metabolism. *Artificial Organs Wiley Periodicals, Inc*, 35(4):373–383.
- Turedi, S., Yulug, E., Alver, A., Bodur, A., Ince, I. (2018). A morphological and biochemical evaluation of the effects of quercetin on experimental sciatic nerve damage in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, Volume 15 Issue 4.
- Uceyler, N., Kafke, W., Riediger, N., He, L., Necula, G., Toyka, KV. (2010). Elevated

proinflammatory cytokine expression in affected skin in small fiber neuropathy. *Neurology*, 74:1806–13.

- Ustundag, B., Kazez, A., Demirbag, M., Canatan, H., Halifeoglu I, Ozercan. (2000). IH Protective effect of melatonin on antioxidative system in experimental ischemia–reperfusion of rat small intestine. *Cell Physiol Biochem*, 10(4):229–236.
- Vanderhoop, R.G., Vanderburg, M.E.L., Huinink, W.W.T., Vanhouwelingen, J.C., Neijt, J.P. (1990). Incidence of neuropathy in 395 patients with ovarian cancer treated with or without cisplatin. *Cancer*, 66, 1697–1702.
- Varija, D., Kumar, K.P., Reddy, K.P., Reddy, V.K. (2009). Prolonged constriction of sciatic nerve affecting oxidative stressors & antioxidant enzymes in rat. *Indian J. Med. Res.*, 129, 587–592.
- Velasco, R., Bruna, J., Briani C. (2014). Early predictors of oxaliplatin-induced cumulative neuropathy in colorectal cancer patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 85(4):392–398.
- Vencappa, S., Donaldson, LF., Hulse, RP. (2015). Cisplatin induced sensory neuropathy is prevented by vascular endothelial growth factor-A. *Am J Transl Res*, 7(6):1032–1044.
- Vykhodtseva, N., McDannold, N., Martin, H., Bronson, RT., Hynynen, K. (2001). Apoptosis in ultrasound-produced threshold lesions in the rabbit brain. *Ultrasound Med Biol*. 27:111–7.
- Wang, D., Lippard, SJ. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 4:307–320.
- Wang, X.M., Lehy, T.J., Brel, J.M. Dorsey, S.G. (2012). Discovering cytokines as targets for chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy. *Cytokine*, 59 3–9.
- Wang, X., Lin, Q., Zhang, T., Wang, X., Cheng, K., Gao, M., Xia, P., Li, X. (2019). Low-intensity pulsed ultrasound promotes chondrogenesis of mesenchymal stem cells via regulation of autophagy. *Stem Cell Res Ther.*; 10(1):41.
- Wang, L., Zheng, K.J., Dong, D.Y., Sun, Y., Wang, Y.M. (2008). The role of oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 24, 108–111.
- Wang, Y., Tang, C., Cai J., Chen, G., Zhang, D., Zhang, Z., Dong, Z. (2018). PINK1/Parkin-mediated mitophagy is activated in cisplatin nephrotoxicity to protect against kidney

- injury. *Cell Death and Disease*, 9:1113.
- Wang, X., Leung, A.W., Luo, J., Xu, C. (2012). TEM observation of ultrasound-induced mitophagy in nasopharyngeal carcinoma cells in the presence of curcumin. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3: 146-148.
- Watkins, L. R., Hutchinson, M. R., Milligan, E., D, Maier S. F. (2007). “Listening” and “talking” to neurons: implications of immune activation for pain control and increasing the efficacy of opioids. *Brain Research Reviews*, vol. 56, no. 1, pp. 148–169.
- Watson, T., Young, S. R. (2008). *Electrotherapy Evidence-Based Practice*. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone, 179–200.
- Wiernik, PH., Schwartz, EL., Strauman, JJ., Dutcher, JP., Lipton, RB., Paietta, E. (1987). Phase I clinical and pharmacokinetic study of taxol. *Cancer Res.*,47(9):2486–2493.
- Windebank, AJ., Grisold, W. (2008). Chemotherapy-induced neuropathy. *J Peripher Nerv Syst*, 13:27-46.
- Wongtawatchai, T., Agthong, S., Kaewsema, A., Chentanez, V. (2012). Altered phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in dorsal root ganglia and sciatic nerve of rats with cisplatin-induced neuropathy. *Asian Biomedicine*, Vol. 6 No. 397 – 411.
- Wood, A.K.W., Sehgal, C.M. (2015). A Review of Low Intensity Ultrasound for Cancer Therapy. *Ultrasound Med Biol*, 41(4): 905–928.
- Xiao, W.H., Bennett, G.J. (2012). Effects of mitochondrial poisons on the neuropathic pain produced by the chemotherapeutic agents, paclitaxel and oxaliplatin. *Pain*, 153 704–709.
- Xiao, W.H., Zheng, H., Zheng, F.Y., Nuydens, R., Meert, T.F., Bennett, G.J. (2011). Mitochondrial abnormality in sensory, but not motor, axons in paclitaxel-evoked painful peripheral neuropathy in the rat. *Neuroscience*, 199,461–469.
- Xiao, WH., Zheng, H., Bennett, GJ. (2012). Characterization of oxaliplatininduced chronic painful peripheral neuropathy in the rat and comparison with the neuropathy induced by paclitaxel. *Neuroscience*, 203:194–206.
- Yamashita, A., Matsuoka, Y., Matsuda, M., Kawai, K., Sawa, T., Amaya, F. (2019). Dysregulation of p53 and Parkin Induce Mitochondrial Dysfunction and Leads to the Diabetic Neuropathic Pain. *Neuroscience*, 416 9–19.

- Yao, X., Panichipal, K., Kurtzman, N., Nugent, K. (2007). Cisplatin Nephrotoxicity: A Review. *The Journal of American Journal of the Medical Sceinces*, 334:115-124.
- Yi, X., Yin, XM., Dong, Z. (2003). Inhibition of Bid-induced apoptosis by Bcl-2. tBid insertion Bax translocation and Bax/Bak oligomerization suppressed. *J Biol Chem*, 278:16992–16999.
- Yu, T., Wang, Z., Mason, T. J. (2004). A review of research into the uses of low level ultrasound in cancer therapy. *Ultrasonics sonochemistry*, 11(2), 95-103.
- Yüce, S., Cemal Gökçe, E., Işkdemir, A., Koç, ER., Cemil, DB., Gökçe, A., Sargon, MF. (2015). An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Ann Plast Surg* 74: 684 692.
- Zankel, HT. (1966). Effect of physical agents on motor conduction velocity of the ulnar nerve. *Arch Phys Med Rehab*; 49:787–92.
- Zelko, IN., Mariani, TJ., Folz, RJ. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3): 337–349.
- Zencirci, S. G., Bilgin, M. D., Yaraneri, H. (2010). Electrophysiological and theoretical analysis of melatonin in peripheral nerve crush injury. *Journal of Neuroscience Methods*, 191(2), 277–282.
- Zhang, JM., An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*, 45:27–37.
- Zhang, X, Chen, W.W., Huang, W.J. (2017). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (Review). *Biomedical Reports*, 6: 267-271.
- Zhang, W., Zhao, L., Liu, J., Du, J., Wang, Z., Ruan, C., Dai, K. (2012). Cisplatin induces platelet apoptosis through the ERK signaling pathway. *Thrombosis Research*, 130 81–91.
- Zheng, H., Xiao, W. H., Bennett, G.J. (2012). Mitotoxicity and bortezomib-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Exp.Neur*, 238.
- Zheng, H., Xiao, WH., Bennett, GJ. (2011). Functional deficits in peripheral nerve mitochondria in rats with paclitaxel- and oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. *Exp Neurol.*, 232(2):154–161.
- Zhu, L., Hao, J., Cheng, M., Zhang, C., Huo, C., Liu, Y., Du, W., Zhang, X. (2018). Hyperglycemia-induced Bcl-2/Bax-mediated apoptosis of Schwann cells via

mTORC1/S6K1 inhibition in diabetic peripheral neuropathy. *Experimental Cell Research*, 367,186–195



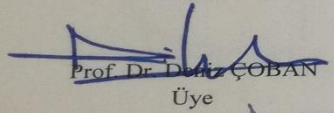
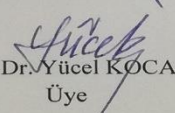
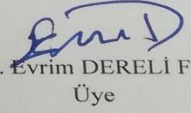
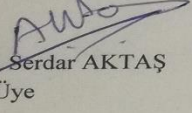
Zicca, A., Cafaggi, S., Mariggio, MA., Vanonozzi, MO., Ottone, M., Bocchini, V., Caviglioli, G., Viale, M. (2002). Reduction of cisplatin hepatotoxicity by procainamide hydrochloride in rats. *Eur J Pharmacol*, 442: 265-272.

Ziskin, MC. (1992). Lewin PA. Ultrasonic exposure try. Boca Raton, Fla: CRC.

Ziskin, MC. (1993). Fundamental Physics of Ultrasound and Its Propagation in Tissue. *RadioGraphics*; 13:705-709.

EKLER

Ek 1

	<p style="text-align: center;">T.C. AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (AYDIN ADÜ-HADYEK)</p>	
Aydın, 26/02/2019		
Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2019 Yılı II. Oturum	
Sayı	: 64583101/2019/012	
Proje Başlığı	: Düşük Yoğunluklu Ultrasesin Sisplatin İle İndüklenmiş Periferik Nöropatideki Tedavi Etkinliğinin Değerlendirilmesi.	
Proje Yürütücüsü	: Özlem BOZKURT GİRİT	
Proje Ekibi	: Mehmet Dinçer BİLGİN, Büşra BİLİR YILDIZ	
Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:		
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması		
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması		
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması		
Hayvan Çalışması	İnsanlarda araştırma	
	İnsan olmayan primatların kullanılması	
	Transgenik hayvanların kullanılması	
	Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.	
Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.		
(Değerlendirmede Bulunmadı)		
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN Başkan	Prof. Dr. Tufan DOST Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ Üye
 Prof. Dr. Deniz ÇOBAN Üye	 Prof. Dr. Yücel KOCA Üye	 Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN Üye
 Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ Üye	(Toplantıya Katılmadı) Vet. Hek. Dr. Birgül ÜNAL Üye	(Toplantıya Katılmadı) Yurdagül ALTINBAŞ Üye
Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.		

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“DÜŞÜK YOĞUNLUKLU ULTRASESİN SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ PERİFERİK NÖROPATİDEKİ TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı Doktora tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Büşra BİLİR YILDIZ

Öğrencinin Adı ve Soyadı

... / ... / ...

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : YILDIZ BİLİR Büşra
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Balıkesir / 16.02.1989
Telefon : 0 554 7537718
E-posta : bsrbilir@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Biyofizik AD	
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Fizik Bölümü	2014
Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Fizik Bölümü	2011

BURSLAR ve ÖDÜLLER

Poster Bildiri Üçüncülük Ödülü, 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2019

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

1. Karaagac, O., **Bilir, B.**, Kockar, H. 2015. Superparamagnetic Cobalt Ferrite Nanoparticles: Effect of Temperature and Base Concentration. Journal of Superconductivity and Novel Magnetism. 28(3):1021-1027.

2. Karaagac, O., **Yildiz, B.B.**, Kockar, H. 2019. The influence of synthesis parameters on one-step synthesized superparamagnetic cobalt ferrite nanoparticles with high saturation magnetization. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 473:262-267.

2. PROJELER

1. Balıkesir Üniversitesi 2014/53 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi, Araştırmacı
2. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi TPF-19015 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi, Araştırmacı

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. **Bilir, B.**, Karaagac, O., Ozel, F., Kockar, H. “Synthesis Methods of Magnetic Nanoparticles”. International Student Workshop on Condensed Matter and Materials Physics- ISWCMMP11, Antalya, Turkey. (27-31 December 2011, Sözlü sunum).
2. **Bilir, B.**, Karaagac, O., Kockar, H. “Cobalt Ferrite Nanoparticles Obtained by Co-precipitation” Turkish Physical Society 29th International Physics Congress, TFD29, Bodrum, Turkey. (5-8 September 2012, Sözlü sunum).
3. Karaagac, O., **Bilir, B.**, Kockar, H. “Synthesis of Superparamagnetic Cobalt Ferrite Nanoparticles: Effect of Reaction Temperature”, p. 937. “4th International Conference on Superconductivity and Magnetism, ICSM2014”, Antalya, Turkey, (27 Nisan-2 Mayıs 2014, poster sunumu).
4. Karaagac, O., **Yildiz, B.B.**, Kockar, H. “Properties of Superparamagnetic Cobalt Ferrite Nanoparticles”, p. 134, “12th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, Magmeet 2018”, Copenhagen, Denmark, (22-26 May 2018, poster sunumu).
5. **Yildiz, B.B.**, Girit, B.O., Bilgin, M.D. “Evaluation of Low Intensity Pulsed Ultrasound Treatment in Cisplatin Induced Peripheral Neuropathy”, OP-246. The International Medical Congress of Izmir Democracy University Current and Future Practice in Medicine, IMCIDU 2019, İzmir, Turkey (6-8 December 2019, Sözlü sunum).

6. **Yildiz, B.B.**, Girit, B.O., Bilgin, M.D. “Low Intensity Pulsed Ultrasound Ameliorates Nerve Dysfunction in Cisplatin Induced Peripheral Neuropathy”. İd 124. 4th International Medicine and Health Sciences Researches Congress, UTSAK 2020, Çorum, Turkey (22-23 August 2020, Sözlü sunum).

B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. **Yildiz, B.B.**, Girit., B.O., Bilgin, M.B. “Sisplatin ile İndüklenmiş Periferik Nöropatide Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases Tedavisinin Etkinliğinin İncelenmesi 2019”, 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, (9-12 Ekim 2019- Adana, poster sunumu).
2. **Yildiz, B.B.**, Girit., B.O., Bilgin, M.B. “Sisplatinle İndüklenen Nöropatide Yenilikçi Tedavi Alternatifi: Düşük Yoğunluklu Darbeli Ultrases 2020”, 18. Ulusal SinirBilim Kongresi, (6-9 Kasım 2020-Ankara, sözlü sunum).